

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

“CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIZAÇÃO DO SUCO EXTRAÍDO
DOS SUBPRODUTOS DE ABACAXI (*Smooth cayenne*)”

Héctor Abel Palacios Cabrera
Aluno

Profa. Dra. Hilary Castle de Menezes
Orientadora

PARECER

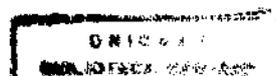
Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Héctor Abel Palacios Cabrera aprovada pela Comissão Julgadora em 18 de dezembro de 1998.

Campinas, 18 de dezembro de 1998

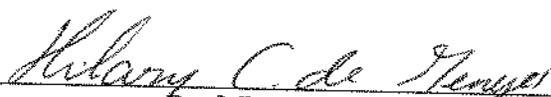
Hilary C. de Menezes
Profa. Dra. Hilary Castle de Menezes
Presidente da Banca

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos

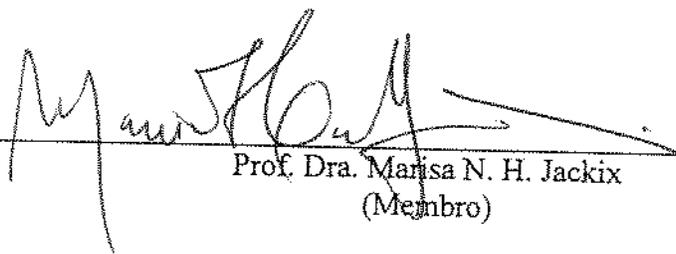
Campinas, 16 de Dezembro de 1998



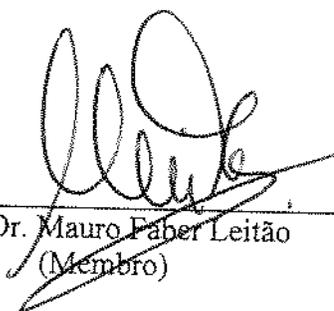
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Hilary Castle de Menezes
(Orientadora)



Prof. Dra. Marisa N. H. Jackix
(Membro)



Prof. Dr. Mauro Faber Leitão
(Membro)

Prof. Dr. Carlos Alberto Gasparetto
(Membro)

Campinas, 16 de Dezembro de 1998

DEDICATÓRIA

*A Deus
à Alexandra
à minha família
aos amigos*

AGRADECIMENTOS

A Deus sobre todas as coisas pela vida, saúde, orientação e sabedoria verdadeira que consiste em conhecê-lo e acreditar pela fé que ele é real.

À Alexandra pelo apoio quando mais eu precisei, valeu Amor!!

Aos meus pais Héctor e Laura, pela orientação humana e ao meu irmão Ricardo, pelo constante apoio moral e espiritual.

A Hilary, pela confiança absoluta que me ofereceu, pelo apoio incansável e pela sua praticidade tão importante para a realização deste trabalho. MUITÍSSIMO Obrigado professora!

A FAPESP, pelo apoio financeiro desta pesquisa.

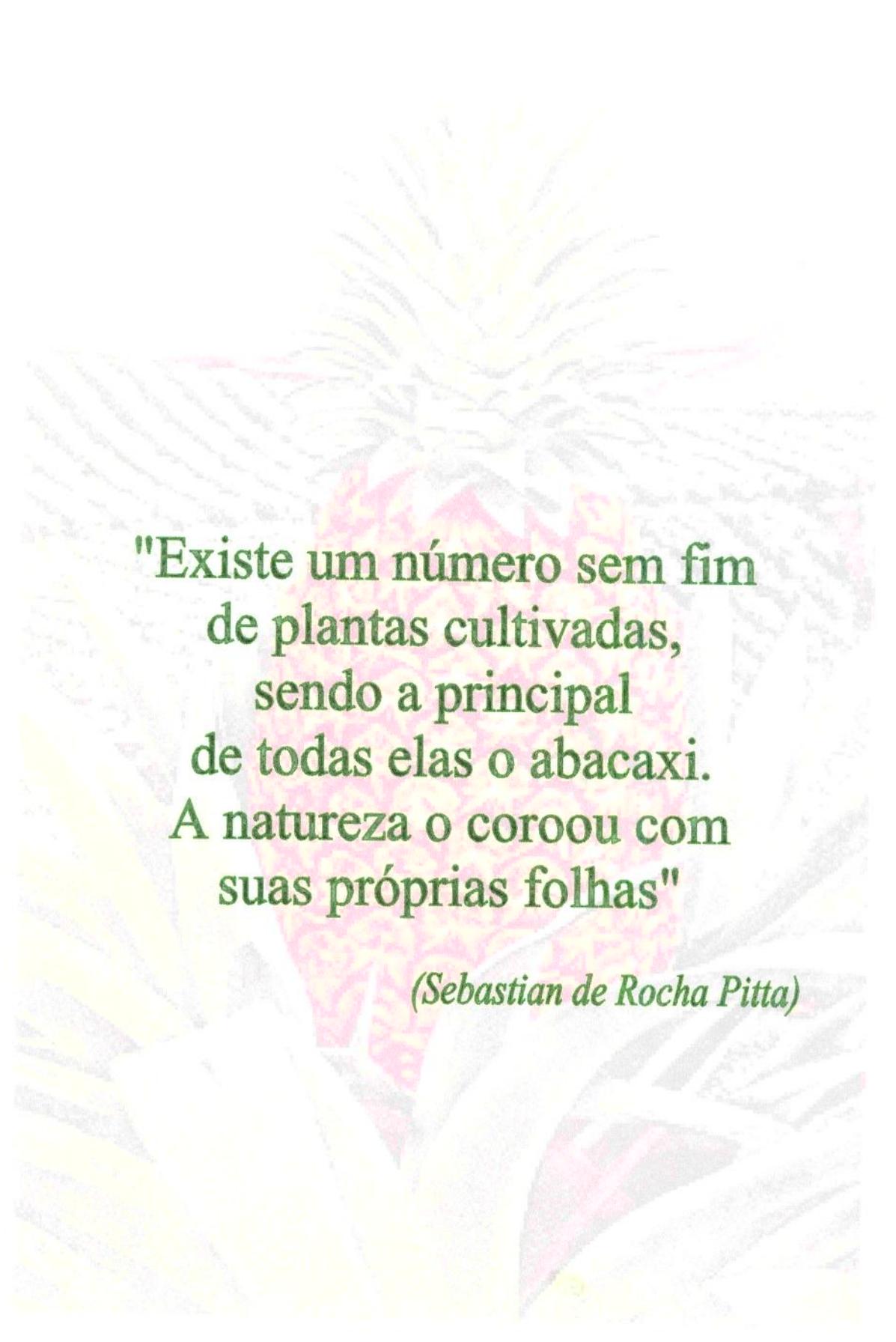
A todos os meus professores sem exceção. Em especial agradeço ao Professor Horácio por ser um exemplo e pela sempre gentil atenção as minhas perguntas.

A Jorge José do Vale Oliveira pesquisador do ITAL, pela amizade, orientação e estímulo para amar a ciência.

Aos meus amigos e colegas porque são: "a vida desta vida". Valeu: Mirco, Pedro, Mauro, Randolpho, Carla, Roberta, Luciane, "Coelho", Adriana, Elizabete, Timba, Valderci, Adaulton, Berna, Alaide, Toninho, Geraldo, Creusa, Cosme, Fátima, Ana Maria e a todos, sem exceção. Ao pessoal da graduação valeu pela alegria e apoio (Valeu Patty, "malhado", etc.)

Este trabalho não seria nada se não carregasse em cada uma das suas palavras, o amor, a simplicidade e o esforço, atributos que não se lêem.

Desejo sinceramente, que meus colegas e futuros colegas, se entreguem 100% ao que escolheram para suas vidas. Pois, só assim, poderão desfrutar verdadeiramente, das alegrias que Deus oferece aqui, nesta terra.



"Existe um número sem fim
de plantas cultivadas,
sendo a principal
de todas elas o abacaxi.
A natureza o coroou com
suas próprias folhas"

(Sebastian de Rocha Pitta)

ÍNDICE

NOMENCLATURA	vi
RESUMO GERAL	1
ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO GERAL	3
OBJETIVOS	7
1 OBJETIVO GERAL	7
2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
2.1 OBJETIVOS DA CARACTERIZAÇÃO DO “MILL JUICE”	7
2.2 OBJETIVOS DA ESTABILIZAÇÃO DO “MILL JUICE”	7
CAPÍTULO 1	8
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO - QUÍMICA DO “MILL JUICE”	8
1 RESUMO	8
2 INTRODUÇÃO	8
3 MATERIAL E MÉTODOS.	9
3.1 MATERIAL	9
3.2 MÉTODOS	11
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
5 CONCLUSÃO	16
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
CAPÍTULO 2	19
AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO “MILL JUICE” (SUCO OBTIDO DAS CASCAS, MIOLO E EXTREMIDADES DO ABACAXI (SMOOTH CAYENNE)	19
1 RESUMO	19

2	INTRODUÇÃO	19
3	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1	PROCESSAMENTO A	22
3.2	PROCESAMENTO B	24
3.3	METODOLOGIA DE ANÁLISE	26
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5	CONCLUSÃO	28
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
CAPÍTULO 3A –		32
BOLORES TERMORESISTENTES		32
1	BOLORES TERMORRESISTENTES.	32
2	HABITAT	32
3	RESUMO CRONOLÓGICO DE OCORRÊNCIAS DE FUNGOS TERMORRESISTENTES EM CONSERVAS E FRUTAS IN NATURA.	33
4	PERIGOS QUE APRESENTAM OS FUNGOS TERMORRESISTENTES AOS PRODUTOS PROCESSADOS E À SAÚDE PÚBLICA.	34
4.1	AOS PRODUTOS	34
4.2	À SAÚDE PÚBLICA	34
5	LIMITES ACEITÁVEIS DE CONTAMINAÇÃO POR BOLORES TERMORRESISTENTES	35
6	MEDIDAS DE PREVENÇÃO PARA EVITAR RISCOS DE CONTAMINAÇÃO POR FUNGOS TERMORRESISTENTES.	36
7	OTIMIZAÇÃO DA ETAPA DE LAVAGEM	38
7.1	EFEITO DO HIPOCLORITO DE SÓDIO SOBRE OS MICRORGANISMOS TERMORRESISTENTES.	38
8	TECNOLOGIAS UTILIZADAS PARA ELIMINAÇÃO DE BOLORES TERMORRESISTENTES	38
8.1	APLICAÇÃO DE AGENTES FUNGICIDAS	38
8.2	ALTAS PRESSÕES	39

8.3 FILTRAÇÃO	40
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
CAPÍTULO 3B –	43
ATIVAÇÃO E GERMINAÇÃO DE ESPOROS TERMORRESISTENTES: Tecnologia alternativa para reduzir a contagem de esporos termorresistentes no “MILL JUICE” (suco obtido dos subprodutos industriais do abacaxi <i>Smooth cayenne</i>)	43
1 RESUMO	43
2 INTRODUÇÃO	44
3 MATERIAL E MÉTODOS	45
3.1 MATERIAL	45
3.2 MÉTODO	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5 CONCLUSÃO	59
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
CAPÍTULO 4 –	62
ESTUDO DOS NÍVEIS RESIDUAIS DE BENOMIL E VAMIDOTION EM SUCOS PROCESSADOS DE SUB-PRODUTOS DE ABACAXI (<i>Smooth cayenne</i>).	62
1 RESUMO	62
2 INTRODUÇÃO	62
3 MATERIAIS E MÉTODOS	65
3.1 DEMARCAÇÃO NO CAMPO	65
3.2 APLICAÇÃO DE AGROTÓXICOS	65
3.3 AMOSTRAGEM DOS ABACAXIS	66
3.4 PROCESSAMENTO	66
3.5 MÉTODOS DE ANÁLISES	67
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
5 CONCLUSÃO	71

6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
CAPÍTULO 5 –		74
AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS RESIDUAIS DE DIURON E PARATION METÍLICO NOS SUB-PRODUTOS DO ABACAXI (<i>Smooth cayenne</i>) PROCESSADO		74
1	RESUMO	74
2	INTRODUÇÃO	74
3	MATERIAIS E MÉTODOS	76
3.1	DEMARCAÇÃO NO CAMPO	76
3.2	APLICAÇÃO DE AGROTÓXICOS	77
3.3	AMOSTRAGEM DOS ABACAXIS	77
3.4	PROCESSAMENTO	77
3.5	MÉTODOS DE ANÁLISE	79
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	80
5	CONCLUSÃO	82
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83
CAPÍTULO 6 –		85
O EFEITO DA HOMOGENEIZAÇÃO A ALTAS PRESSÕES SOBRE A ESTABILIZAÇÃO DA TURBIDEZ E AS PROPRIEDADES REOLÓGICAS DO “MILL JUICE”.		85
1	RESUMO	85
2	INTRODUÇÃO	86
3	MATERIAIS E MÉTODOS	88
3.1	HOMOGENEIZAÇÃO	89
3.2	METODO PARA AVALIAR AS TENDÊNCIAS DE UM SUCO PARA SEDIMENTAR	89
3.3	AVALIAÇÃO SENSORIAL-	91
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	91
5	CONCLUSÕES	111

6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113
	CAPÍTULO 7 –	115
	INFLUENCIA DA GOMA NATIVA DE ABACAXI SOBRE AS PROPRIEDADES REOLÓGICAS E A ESTABILIZAÇÃO DO SUCO DOS SUBPRODUTOS DE ABACAXI (<i>SMOOTH CAYENNE</i>)	115
1	RESUMO	115
2	INTRODUÇÃO	116
3	MATERIAL E MÉTODOS.	117
3.1	PREPARAÇÃO DA AMOSTRA	117
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	119
5	CONCLUSÃO	135
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	135
	CAPÍTULO 8 –	137
	ENZIMAS	137
1	RESUMO	137
2	INTRODUÇÃO	138
3	MATERIAL E METODOS	140
3.1	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE (VELOCIDADE DE REAÇÃO ENZIMA-SUBSTRATO) E ATIVIDADE RESIDUAL DA ENZIMA PECTINAMETILESTERASE	141
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	146
5	CONCLUSÕES	158
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	158
	CONCLUSÕES GERAIS	161
	SUGESTÕES	163
	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DA INTRODUÇÃO GERAL	164

NOMENCLATURA

γ = Taxa de Deformação (1/ s)

τ = Tensão de Cisalhamento (Pa)

η = Viscosidade Aparente (Pa.s)

GL = Graus de liberdade

Kc = Viscosidade Plástica de Casson Kc (Pa * s)^{1/2}

Ko = Tensão Inicial (Pa)^{1/2}

MQ = Média quadrática

SQ = Soma quadrática

T = Temperatura

t = tempo

RESUMO GERAL

O abacaxi ou ananás pertence à família Bromeliacea (Subclasse monocotiledôneas), Pertence ao gênero *Ananas* mill e à espécie *Ananas comosus* (L), a qual abrange todas as variedades atualmente cultivadas de abacaxis. O “mill juice” é um subproduto da indústria de abacaxi que é elaborado com as cascas, extremidades e miolo de abacaxi. Em alguns países, este subproduto é utilizado para aumentar o rendimento do suco simples feito com a polpa, e também para substituir a água no xarope de sacarose para a produção de abacaxi enlatado. Este subproduto esta tendo uma grande demanda em países que elaboram bebidas de alta qualidade, embora não existam dados na bibliografia sobre a composição, características sensoriais, microbiológicas e detecção de resíduos de pesticidas do “mill juice”(NOOMHORM *et al* 1998; SPROGO *et al* 1997; APV 1996). A utilização do “mill juice” na forma de sucos integrais, ou misturas com outros sucos, também não é reportada.

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar e estudar a estabilização das partículas suspensas do suco extraído dos subprodutos de abacaxi (cascas, miolo e extremidades) havaiano variedade *Smooth Cayenne*. Na caracterização foram realizados as seguintes determinações no suco: composição centesimal, contagem microbiológica de bolores, bactérias, leveduras e esporos de bolores termorresistentes, e detecção de resíduos de pesticidas.

No que diz respeito à estabilização, neste trabalho foi estudado o efeito do homogeneizador a pressão, da hidrólise da goma nativa do suco e da atividade da enzima pectinamtilsterase sobre o comportamento das partículas suspensas no suco.

Palavras Chave: *suco de abacaxi – sub-produtos ; pesticidas; microbiologia; gomas; enzimas; homogeneização.*

ABSTRACT

SUMMARY

The pineapple or ananas, belongs to the family *Bromeliacea* (subclass: monocotyledoneas). The species *Ananas comosus* (L) belongs to the genus *Ananas* mill, which includes all the currently cultivated varieties of pineapple. "mill juice" is a subproduct of the pineapple industry, elaborated from the peel, core and tops and tails. In some countries this sub-product is used to increase the yield of the single strength juice made from the pulp, and also to substitute the water in the sucrose syrup used in the production of canned pineapple. There is a great demand for this sub-product in countries which produce high quality beverages, although there is no information in the literature with respect to its composition, sensory characteristics, microbiology or presence of pesticide residues (NOOMHORM et al 1998; SPROGO et al 1997; APV 1996). The use of "mill juice" in the form of whole juice or mixtures with other juices, has not been reported.

This present work aimed at characterizing and studying the cloud stabilization of the juice extracted from pineapple by-products (peel, core and toops and tails) of the Hawaiian variety *Smooth cayenne*. The following determinations were carried out to characterize the juice: proximate composition, microbiological counts (moulds, bacteria, yeasts, heat resistant moulds) and the presence of pesticide residues.

With respect to cloud stabilization, the behaviour of the particles in suspension was studied as a result of homogenizing under pressure, hydrolysing the native gum of the juice and as a function of the activity of the natural enzyme pectin methyl esterase.

Keywords: pineapple juice - sub-product ; *pesticides; microbiology; gums, enzymes; homogenization.*

INTRODUÇÃO GERAL

“Existe um número sem fim de plantas cultivadas, sendo a principal de todas elas o abacaxi, a natureza o coroou com uma diadema (coroa) de suas próprias folhas”. (Sebastian De Rocha Pitta início do século XVIII).

Conhecida como abacaxi no Brasil e Paraguai esta fruta recebe o nome de pineapple em inglês, pomme de pin ou ananás em francês, piña en castellano, piña blanca na Colômbia, piña de água ou piña açucarada em El Salvador,.

O abacaxi ou ananás, nomes pelos quais se conhecem tanto a planta como o fruto, pertence à família Bromeliacea (subclasse das monocotiledôneas), ao gênero Ananás Mill e à espécie *Ananas comosus* (L), a qual abrange todas as variedades atualmente cultivadas de abacaxis (MARTIN *et al*,1978).

JOHNSON, citado por HODGSON.(1993) publicou uma lista de 135 variedades de abacaxis cada uma acompanhada de uma breve descrição; aproximadamente a metade dessas variedades têm alguma importância comercial.

No Brasil, a variedade cultivada em maior escala é a Pérola, vindo em ordem de produção a *Smooth cayenne* em segundo e Jupi, cultivada no nordeste, em terceiro (DE MARTIN *et al*, 1978; CARVALHO *et al* , 1998).

A produção mundial do abacaxi em 1997 aumentou em 1 milhão de toneladas com relação a 1996, aproximando-se de um total de 13 milhões de toneladas. Nos últimos dez anos a produção aumentou em um terço, encontrando-se, junto com a pêra, em décimo lugar no ranking mundial da produção frutícola. Os principais produtores em ordem de importância e que ultrapassam a casa de 1 milhão de toneladas são: Tailândia, com 15,3% da produção mundial; Brasil, com 14,8%; Filipinas, com 13,0% (FAO, 1998; LOILLET, 1998)

O abacaxi pode ser consumido em seu estado natural nas próprias regiões de produção, no mercado interno do país produtor, ou exportado. A fruta em calda ou enlatado e o suco são os principais produtos da industrialização do abacaxi. (CARVALHO, *et al*, 1998; DE MARTIN *et al*, 1978). No que se refere à exportação de suco de abacaxi o volume negociado em 1996 pelo Brasil foi de 1.578 t, sendo a Holanda o país de destino de 96% deste volume

exportado. O Brasil exportou nesse mesmo ano 11,5 mil toneladas de abacaxi *in natura* (PAIVA & ANDRADE, 1998).

Entre os diversos produtos e subprodutos industrializados de abacaxi temos: abacaxi em calda, "crush" de abacaxi para confeitaria, sucos, geléia, ração, salada de frutas tropicais, abacaxi cristalizado, suco simples preservado, suco simples pasteurizado, suco concentrado pasteurizado, suco concentrado congelado, suco de abacaxi desidratado e suco de extremidades e casca de abacaxi ("*mill juice*"). O "*mill juice*" é utilizado em alguns países em misturas ou substituindo a água no xarope de sacarose para a produção de fruta em calda. Algumas fábricas no exterior ainda utilizam parte desse suco concentrado para a fabricação de geléias de abacaxi. Na década de 80 esse produto tinha importância apenas local (MONTENEGRO, 1982; DE MARTIN *et al* 1978), passando a ter expressão comercial recentemente, com o crescimento da produção de "*mill juice*" nos países asiáticos, Tailândia e Filipinas (APV, 1996; SPROGO, 1997; CARVALHO *et al*, 1998).

Além da composição, são relevantes as características toxicológicas e microbiológicas do produto processado obtido a partir de subprodutos. No processamento de subprodutos é comum detectar resíduos de pesticidas na pele de frutas e vegetais, que podem concentrar pela perda de água CABRAS, 1998. ELKINS, 1989, reportou aumento de concentração de pesticidas em amostras em base seca comparadas com as de base úmida. Durante o processamento tem sido feitos alguns estudos do comportamento dos pesticidas. A maioria reportam a degradação dos resíduos nas etapas de lavagem, branqueamento e pasteurização PETERSEN *et al*, 1996

O abacaxi cultivado no campo está sujeito ao ataque de pragas como a broca, cochonilha, ervas daninhas e fungos. Para neutralizar estas adversidades e garantir uma fruta de boa qualidade é necessário que o abacaxizeiro seja cultivado com aplicação de pesticidas segundo as boas práticas agrícolas. Os agrotóxicos mais utilizados na cultura do abacaxi são: paration metílico, vamidotion, diuron e benomil (insecticida, herbicida e fungicida respectivamente).

A sanificação na indústria de alimentos visa basicamente à obtenção de um produto final que alia às suas qualidades nutricionais e organolépticas a uma condição sanitária adequada de modo a não oferecer nenhum risco à saúde do consumidor. A avaliação da limpeza e das boas práticas durante o processo é baseada principalmente na análise

a água formando soluções viscosas mesmo em concentrações fortemente diluídas JANSER, 1997. CARLE (1998) reporta que após a hidrólise enzimática de um polímero (pectina, goma etc.) há formação de partículas extremamente hidratadas, com menor tamanho e maior distribuição, que podem contribuir favoravelmente na estabilização de partículas sólidas em suspensão.

Dos fatores significativos em relação à sedimentação (perda da estabilização) dos sucos, as enzimas são consideradas importantes. A pectinmetilesterase (PME) é uma enzima altamente específica para as estruturas químicas do D- galacturonanos e catalisa a hidrólise dos grupos éster metílicos dos resíduos de ácidos galacturônicos da pectina. A PME tem sido encontrada em todo material extraído de plantas, sendo que nas frutas normalmente existem dois ou mais isômeros desta enzima ALONSO *et al* 1997. Entre as principais causas da sedimentação em sucos, a inativação parcial (ou regeneração durante a estocagem) da PME é a mais importante CASTALDO (1991). Diversos autores têm reportado a resistência das enzimas pectinesterases a tratamentos térmicos; esta termoestabilidade tem sido atribuída a frações isoméricas da enzima (SNIR, *et al*, 1996; CAMERON, 1995). Tratamentos térmicos superiores a 100°C, foram necessários para inativar a PME, presente no suco de abacaxi variedade *Smooth cayenne* GHERARDI, 1994.

A maior parte da produção brasileira de abacaxi é consumida "*in natura*" no mercado interno CHAULFON (1998), sendo inexpressiva a parte consumida através de produtos industrializados. Apesar de nosso país ser um grande produtor de abacaxi, temos pequena participação como exportador (MONTENEGRO, S.H., 1982, JAEGER, 1998).

Sendo o Brasil um país onde a cultura, e comercialização do abacaxi são representativas, pretende-se, como primeiro objetivo, caracterizar o "mill juice" quanto a sua composição, características microbiológicas e resíduos de pesticidas, com a finalidade de utilizá-lo este numa infinidade de produtos que usam o suco de abacaxi como matéria-prima principal, assim como, na elaboração de misturas de sucos e néctares, néctares de sucos, isto poderia gerar interesse no mercado externo ou interno de doces, bebidas etc

Este trabalho tem por objetivo, além de caracterizar o "mill juice", estudar o efeito da homogeneização à pressão sobre as fibras do suco de abacaxi (6000 psi- 8000psi); a hidrólise enzimática (0,03%-0,75% de enzima pectinase) sobre a goma nativa do suco; a determinação de velocidade de reação PME- substrato (75-95°C/ 0,05-3,5 min) e finalmente a determinação

da atividade residual da enzima pectinmetilesterase na melhor condição, tempo/temperatura estabelecida na determinação de velocidade de reação da PME, para entender melhor o fenômeno da sedimentação e tentar resolver o sério defeito de qualidade que representa a separação de fases nos sucos.

Fica para nós o desafio constante de aproveitar ao máximo nossos recursos, aperfeiçoar nossa tecnologia e nos constituir em fornecedor de produtos tropicais diferenciados, cuja tendência de consumo interno e externo cresceu nestes últimos anos

OBJETIVOS

1 OBJETIVO GERAL

Obter um suco de boa qualidade a partir dos resíduos de abacaxi ("mill juice") e otimizar a estabilização do mesmo.

2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.1 OBJETIVOS DA CARACTERIZAÇÃO DO "MILL JUICE"

Obter um suco de excelente qualidade microbiológica que não tenha resíduos de agrotóxicos acima dos estabelecidos na legislação brasileira e internacional

2.2 OBJETIVOS DA ESTABILIZAÇÃO DO "MILL JUICE"

Entender melhor o fenômeno da sedimentação e tentar resolver o sério defeito de qualidade que representa a separação de fases (soro - polpa) nos sucos

CAPÍTULO 1

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO - QUÍMICA DO "MILL JUICE"

1 RESUMO

O *mill juice* (suco extraído das cascas, extremidades e miolo do abacaxi) foi pasteurizado a 90°C por 30 segundos e posteriormente quantificou-se seus principais e alguns menores componentes. Os resultados incluem: acidez titulável como ácido cítrico (0,63g/100ml), pH (3,7), açúcares totais (5,9g/100ml), açúcares redutores (3,63g/100ml), açúcares não redutores (2,27g/100ml), Brix (12°), sólidos totais (48 g/100g), cinzas (0,25 g/100g), pectinas (0,1g/100g), proteínas (0,33 g/100g), carboidratos totais (7,8g/100g), teor de ácido ascórbico (7,3 mg/100g), potássio (122,9 mg/100g). Foram feitas análise de cor analisando os parâmetros de cor (L, a, b) utilizados pelo método de Hunter. A cor do "mill juice" foi comparada com um suco comercial. A luminosidade representada pelo parâmetro "L" foi maior no suco comercial controle que no "mill juice", este dado coincidiu com as observações visuais que a primeira vista mostravam a uma coloração mais escura do "mill juice" em relação ao controle. As colorações vermelha e amarela (a, b) respectivamente, foram maiores no "mill juice" que no suco controle.

2 INTRODUÇÃO

Os subprodutos de abacaxi correspondem aproximadamente (30-40%) do total descartado em uma produção de sucos o frutas enlatadas. Deste total podem ser extraídos aproximadamente 85% de suco, ou que elevaria o rendimento de suco consideravelmente. (TISSEAU, 1986; SAVITCI, 1995). O "mill juice" (suco obtido das cascas, extremidades, miolo do abacaxi) é um subproduto que esta sendo industrializado pela importância econômica que representa, pelo aproveitamento dos açúcares redutores e não redutores que ele possui e pela extração do suco das cascas que aumenta o rendimento total. Alguns grandes produtores de produtos processados de abacaxi tem produzido e comercializado este subproduto com muito sucesso. Os países importadores utilizam o suco clarificado de "mill juice" para elaborar bebidas mistas com outras frutas, ou concentrando e deionizando o "mill juice" clarificado para preparar uma solução de açúcar, (NOOMHORM, 1998; SPROGO 1997; APV 1996).

A caracterização e a avaliação de adulteração do suco de abacaxi processado a partir da polpa é feita através dos seguintes parâmetros: acidez titulável (g ácido cítrico/100g amostra), açúcares redutores, açúcares não redutores, potássio, aminoácidos livres (asparagina, metionina, histidina, lisina) e finalmente o valor de HMF (hidroximetilfurfural), nitratos, ácido L-ascórbico, OOGHE, 1995. Muitos processadores do Brasil estão processando o suco de abacaxi com cascas (SAVITCI, 1995) devido a isto é muito importante conhecer a composição química e físico-química do suco extraído dos subprodutos de abacaxi (cascas, extremidades, miolo) além das características sensoriais como a cor. HODGSON, 1992 reportou que a composição de pigmentos (carotenóides, antocianinas) da casca difere da polpa em quantidade e estrutura química; a clorofila abundante no início da frutificação do abacaxi decresce na maturação da fruta.

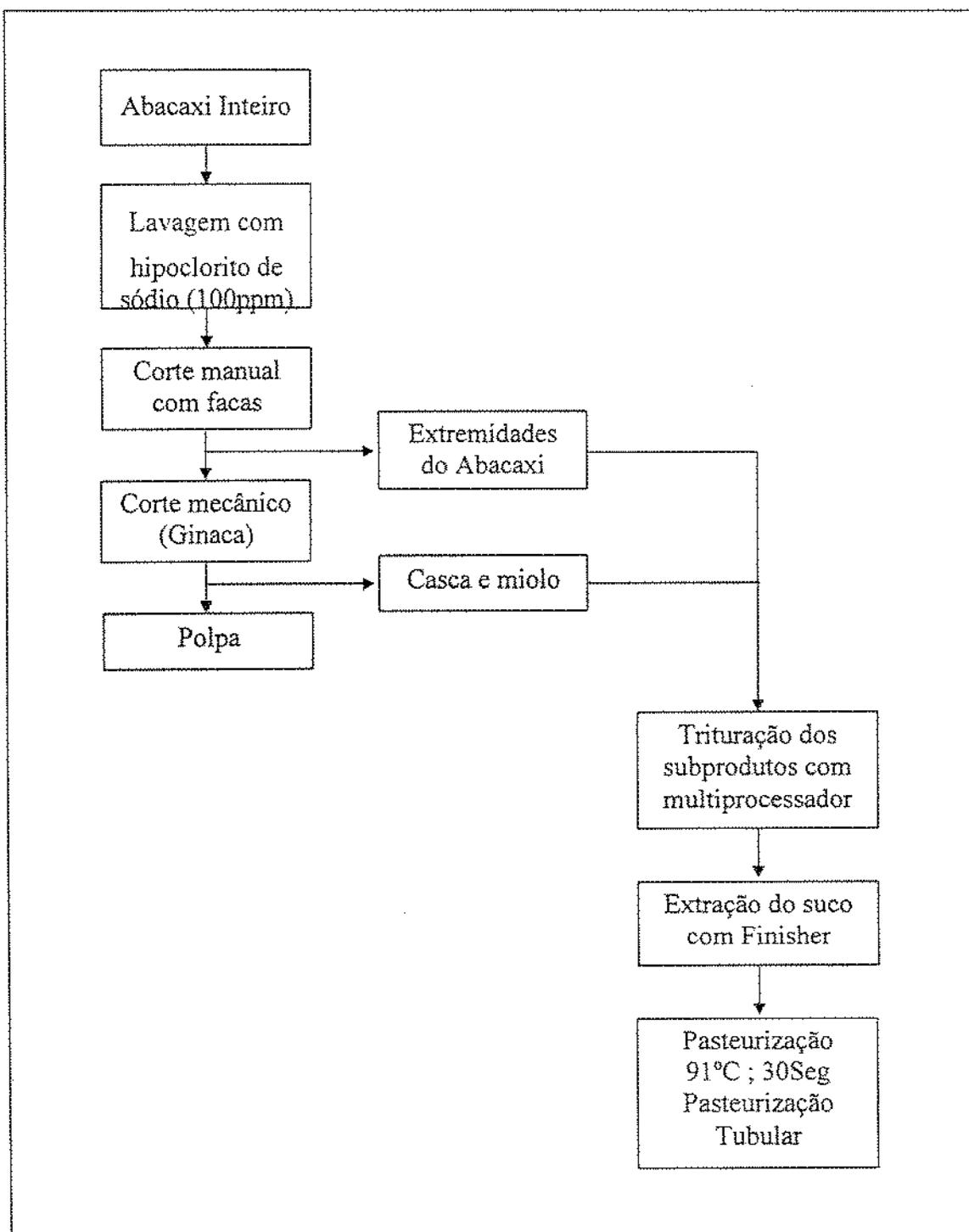
O efeito psicológico da cor sobre a preferência do consumidor tem sido demonstrado muitas vezes. A cor embora seja só um componente dos atributos dos sucos influi muito no valor e aceitabilidade do produto, além de ser um fator da qualidade que está sendo avaliado como uma importante característica sensorial das bebidas e produtos alimentícios (HEIDJEN, 1979; ANTHONY, 1984; BUSLIG, 1985). Tratando-se o "mill juice" de um produto elaborado de cascas achamos importante determinar, e respectivamente comparar a cor, com um suco controle feito só com a polpa do abacaxi.

Não foram achados dados na literatura sobre a composição de "mill juice", de modo que este trabalho tem por objetivo determinar características químicas e físico-químicas deste produto visando caracterizá-lo.

3 MATERIAL E MÉTODOS.

3.1 MATERIAL

O abacaxi havaiano (*Smooth cayenne*) utilizado para obter o suco "mill juice" integral (49%± 1,041) de teor de polpa e densidade relativa (1,1212g/cc), foi extraído e analisado após pasteurização 90°C/30 segundos. O suco foi embalado em latas de alumínio após exaustão a temperaturas acima de 75°C. As análises foram feitas após um dia a extração do suco. O suco utilizado como controle para a avaliação da cor foi suco de abacaxi comercial adquirido no supermercado.



Fluxograma do processamento de “mill juice”

3.2 MÉTODOS

Foram realizadas as seguintes determinações: teor de polpa (REDD *et al* 1986); °Brix (Sólidos solúveis) método refractométrico; pH ; acidez titulável, reportada como ácido cítrico (AOAC 1997); açúcares totais e açúcares redutores e não redutores (Normas Adolfo Lutz 2ed. 1976); sólidos totais (AOAC 1997); fibras com o método de detergência (GOERING *et al* 1970); cinzas (AOAC 1997); proteínas (AOAC 1997); carboidratos totais método colorimétrico, ácido ascórbico (BENASSI, 1990); pectinas. Método m-hidroxidifenil (BLUMENKRANTZ *et al* 1973), densidade relativa a 90°C .

O potássio foi determinado por espectrometria de emissão em plasma indutivamente acoplado (ICP-AES) em um equipamento ICP 2000 BAIRD com vazão da amostra 3ml/min e posição da tocha: horizontal 19mm, vertical 19mm, pot (1000 hertz).

A determinação de cor foi feita no espectrofotômetro marca Hunter lab modelo Color Quets II calibrado para transmitância total usando padrão de calibração C 6299. O sistema de cor utilizado foi CIELAB (L*, a*, b*), iluminante DGS, angulo observador 10°. Foi utilizada cubeta de caminho ótico 10mm própria para o equipamento acima. Todas as análises foram feitas em duplicatas

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias dos valores e desvios padrão das propriedades físicas e físico-químicas foram calculados e são apresentadas na TABELA 1

Tabela. 1 Determinações físicas e físico-químicas do "mill juice".*

Determinações	Porcentagem (g/100g de amostra)
Acidez Tituláveis (g ácido cítrico/100g suco)	0,63 ± 0,002
pH	3,66
Sólidos Solúveis (°Brix)	12 ± 0,071
Sólidos Totais	48± 0,029
Cinzas	0,25± 0,031
Potássio (mg/100g)	122,9 ± 0,731

* Desvio Padrão de duplicatas.

Os resultados obtidos das determinações químicas de fibra, proteína, pectina, carboidratos totais, açúcares totais , açúcares redutores e não redutores e vitamina C, são apresentadas na (TABELA 2).

Tabela 2- Determinações Químicas do "mill juice". *

Determinações	Porcentagem (g/100g de suco)
Fibras	0,17 ± 0.01
Proteína	0,33 ± 0.01
Pectina	0,1
Carboidratos Totais	7,80 ± 2,72
Açúcares totais	5,27 ± 0,21
Açúcares redutores	3,24 ± 0.04
Açúcares não redutores	2,03 ± 0.04
Acido ascórbico (mg/100g)	7,30 ± 1.55

* Desvio Padrão de duplicatas

A maioria dos valores obtidos nas determinações da composição do "mill juice" foram comparados com os parâmetros reportados por (KRUEGER *et al*, 1992; HODGSON, 1992) e são apresentados na TABELA 3.

Tabela 3- Comparação da composição do suco de abacaxi e "mill juice" (suco feito exclusivamente com cascas, extremidades e miolo de abacaxi). *

<u>Composição (g/100g de suco)</u>	Suco de abacaxi	"mill juice"
Açúcares redutores	3,3-5,8	3,24
Açúcares não redutores	4,7-6,25	2,03
Açúcares totais	8-12	5,27
Carboidratos totais	12,77	7,8
Proteínas	0,4	0,33
Fibras	0,10	0,17
Cinzas	0,30	0,25
Vitamina C (mg/100g)	10,7	7,3
Potássio (mg/100g)	110-136	122,9
°Brix	13,8	12°
Acidez (g ácido cítrico/100g suco)	0,46	0,63
pH	3,4-3,7	3,66

*Os dados correspondem as médias das determinações.

** Segundo KRUEGER *et al.*, 1992 e HODGSON 1992.

Analisando os dados apresentados na tabela 3, podemos perceber a grande similaridade que existe entre a composição do suco de abacaxi processado da polpa e o feito

com os subprodutos (cascas, extremidades, miolo). Existem diferenças importantes na composição de carboidratos totais e açúcares totais, principalmente na composição de açúcares não redutores. A acidez do "mill juice" é maior que as dos sucos de abacaxi. no entanto CAMARA, 1995 reportou acidez de sucos de abacaxi comerciais muito próximos e ainda maiores (0,69%) aos do "mill juice" (0,66%).

O valor de carboidratos totais determinado pelo método colorimétrico apresenta um desvio muito alto, embora aparentemente de acordo aos valores calculados no "mill juice" não foram representativos (40,9ug/ml e 37,5ug/ml) quando transformados em g/100ml, as diferenças foram mais notáveis, a sensibilidade do método é muito importante ser considerada em relação a este parâmetro.

Os outros parâmetros comparados apresentam valores muito semelhantes. Sendo os dados do suco de abacaxi (tabela 3) as médias da composição de sucos comerciais dos principais produtores do mundo e muito similares com os de "mill juice", é muito importante utilizar tecnologia de ponta para processar resíduos de abacaxi, de maneira que ao processar junto, os componentes da fruta (polpa e casca) prática tecnológica muito comum entre os processadores brasileiros SAVITCI, 1995, o segundo não altere as propriedades sensoriais principalmente a cor do produto

Em relação às análises de cor realizadas no espectrofotômetro Hunter Lab foram observadas diferenças entre o "mill juice" e o suco de abacaxi utilizado como amostra controle principalmente no parâmetro 'a' (intensidade de cor vermelho) que é 44,8 vezes maior no "mill juice" que no suco controle. Medidas objetivas de cor indicam que a cor amarela 'b' é 1,76 vezes maior no "mill juice" que no suco controle. A luminosidade determinada pelo parâmetro 'L' é maior 1,39 vezes no suco controle em relação ao "mill juice". Com relação a este parâmetro, embora não tenha sido feito análise sensorial da cor, foi perceptível claramente a diferença de cor entre os dois sucos, o suco "mill juice" é muito mais escuro (marrom), que o suco controle.

Os principais pigmentos reportados no abacaxi são: carotenóides, antocianinas e clorofila, presentes tanto nas cascas como na polpa do abacaxi HODGSON, 1992. Os resultados apresentados na TABELA 4, indicam uma maior concentração de carotenóides e antocianinas nas cascas do abacaxi em relação a polpa, principalmente das antocianinas que

conferiram maiores valores do parâmetro 'a' (coloração vermelha) nas amostras do "mill juice".

Tabela 4- Determinações de cor no "mill juice" e suco de abacaxi comercial.*

Determinações	Suco de abacaxi controle	"mill juice"
<u>Parâmetro : Cor</u>		
L	62,74	45,22
a	0,22	9,86
b	32,82	57,63

* Média de duplicatas.

Também foram feitas análises do suco filtrado de abacaxi e do "mill juice". Os sucos foram filtrados com papel filtro Whatman (filtração rápida). O aspecto do suco foi límpido sem nenhuma turbidez perceptível, os resultados são apresentados na tabela 5.

Tabela 5- Determinações de cor no "mill juice" e suco de abacaxi comercial (filtrados).*

Determinações	Suco de abacaxi controle (filtrado)	"mill juice" (filtrado)
<u>Parâmetro : Cor</u>		
L	93,74	79,07
a	- 1,31	0,78
b	12,22	24,54

* Média de duplicatas

De acordo aos valores apresentados na tabela 5, observa-se que continua sendo maior o parâmetro 'L' (luminosidade) da amostra controle em relação ao "mill juice". Os valores do parâmetro 'b' (intensidade amarela), foram duas vezes maiores no "mill juice" em relação ao

suco controle. O suco comercial apresentou intensidade verde (-a) maior no suco comercial que no “mill juice”, embora tenha diminuído o valor de coloração vermelha ('a'+ 0,78). Em ambas situações evidencia-se a baixa solubilidade do pigmento vermelho (antocianina). O parâmetro 'b' (intensidade amarela) também diminuiu em ambos sucos no entanto o pigmento amarelo (possivelmente carotenóides) é mais solúvel que o pigmento vermelho ao compararmos as diminuições da intensidade de cor após a filtração.

5 CONCLUSÃO

Podemos concluir que o “mill juice” (suco extraído e pasteurizado das cascas, extremidades e miolo do abacaxi) tem uma composição muito similar aos sucos comerciais feitos de polpa de abacaxi, e que os principais parâmetros que podem estabelecer diferença significativa entre eles são: porcentagem de açúcares totais (principalmente açúcares não redutores) e carboidratos totais. Em relação a cor, de acordo aos resultados apresentados nas tabelas e observações qualitativas concluímos que o suco de cascas possui menos luminosidade (é mais escuro) que o suco de abacaxi comercial utilizado como controle. Dados obtidos no Hunter e apresentados na tabela 5 sugerem que a filtração do “mill juice” pode corrigir a luminosidade e pigmentação, melhorando seu aspecto, no entanto isto só poderá ser inteiramente concluído fazendo uma análise sensorial da cor onde possam ser levadas em conta as preferências do consumidor.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC Official methods of analysis international, 16 ed. v. 1, 1997.
- ANTHONEY, K., ENNIS, D., COOK, P., Lemon juice color evaluation: Sensory and instrumental studies Journal of Food Science , v. 49, p. 1435-1437, 1984.
- APV: Food & Drink, Peterborough, England, April, p. 4 , 1996.
- BENASSI, M.T., Análise dos efeitos dos diferentes parâmetros na estabilidade da vitamina C en vegetais processados, Campinas, 1990, 150p. Tese (Mestrado)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- BLUMENKRANTZ, N., ASBOEHANSEN,G., New methods for quantitative determination of uronic acids. Analytical Biochemistry , v.54, p.484-489, 1973
- BUSLIG, B.S., WAGNER JR, CH.I., Instrumental measurement of orange juice color Food Technology p.95-97, Set. 1985.
- CAMARA, M., DÍEZ, C., TORIJA, E., Chemical characterizathion of pineapple juices and nectars. Principal components analysis Food Chemistry v. 54, p. 93-100, 1995.
- GOERING, H.K., SOEST, P.J., Forage fiber analysis Agric- Handbook, n. 375, 1970
- HEIJDEN, V.D., PEER, H.G., BRUSEL, B.P., KOSMEIJER., Colour measurements of orange, peach, and apricot fruit drinks and their raw materials in relation to pasteurization and storage Confructa v. 24, n. 5/6, p. 195-205, 1979.
- HODGSON, S.A., HODGSON, R.L. Pineapple juice In: Nagy, S., Chen, S.CH., & Shaw, E.P. Fruit Juice Processing Technology, Auburndale: Agscience Inc. 1993. cap 11., p. 378-434.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Ed. Coordenadoria dos serviços técnicos especializados- Secretaria de Estado da Saúde, v. 1, 371p., 1976.

- KRUEGER, D.A., KRUEGER, R.G., MACIEL, J., Composition of pineapple juice Journal of AOAC International v. 75, n. 2, 1992.
- NOOHORM, A., KUPONGSAK, S.M., CHANDRKRACHANG, S., Deacetylated chitin used as adsorbent in production of clarified pineapple syrup J. Sci. Food Agric, v. 76, n.2, p. 226-232, 1998.
- OOGHE, W., DRESSELAERTS, D., Quality parameters for pineapple juice Fruit Processing v. 5, p. 11-17, 1995.
- REDD, J.B., HENDRIX, CH.M., HENDRIX, D.L., Quality control manual for citrus processing plants, Intercit, Florida, Vol. I, p. 37, 1986.
- SAVITCI, L.A., GASPARINO FILHO, J., MORETTI, V.A Perfil Industrial e de Mercado para Suco de Abacaxi. Colet. Ital, v. 25, n.2, p. 153-168, 1995.
- SPROGO, J., COOPER, T., Technologies for high quality and economical processing, Fruit Processing, v.5, p. 166-170, 1997.
- TISSEAU, R., Valorisation de déchets de conserverie d'ananas. Possibilités d'extraction de bromeline Fruits, v. 41, n. 12, p. 703-708, 1986.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO “MILL JUICE” (SUCO OBTIDO DAS CASCAS, MIOLO E EXTREMIDADES DO ABACAXI (SMOOTH CAYENNE))

1 RESUMO

Suco “mill juice” obtido das cascas, miolo e extremidades do abacaxi havaiano (*Smooth cayenne*) pasteurizado e *in natura* foi avaliado quanto os parâmetros de qualidade microbiológica estipulados para sucos integrais: bolores e leveduras, coliformes totais, coliformes fecais, e também contagem de esporos de bolores termorresistentes. Os resultados das análises do suco *in natura* foram: contagem total $1,9 \times 10^6$ UFC/g, coliformes totais 46 UFC/g, coliformes fecais $< 0,3$ NMP/g, esporos termorresistentes 46 NMP/100ml suco. O “mill juice” processado foi pasteurizado a $91,5^\circ\text{C}/30$ segundos e as amostras foram recolhidas em frascos estéreis. Os resultados das análises foram: < 10 UFC/g de bolores e leveduras, $< 0,3$ UFC de coliformes fecais, < 1 NMP/g de coliformes totais, 1UFC/100ml de suco de esporos termorresistentes. Segundo os resultados obtidos nas análises microbiológicas concluímos que o suco “mill juice” pasteurizado encontra-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira e o CODEX. O suco *in natura* do abacaxi não tem padrões estabelecidos na legislação. Foram estudados neste trabalho os efeitos do hipoclorito de sódio em concentrações de 5ppm e 100ppm sobre a redução de esporos de bolores termorresistentes. Os resultados encontrados não sugerem uma efetiva redução nem eliminação pelo cloro sobre os esporos do bolor.

2 INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo produtor de abacaxi e esta entre os 20 maiores exportadores de suco. O suco é o terceiro em ordem de preferência dos consumidores, atrás do suco de laranja e maçã, a nível mundial (FAO, 1998; OLESEN, 1996; SAVITCI, 1995). O consumo de suco processado de abacaxi no mercado interno é desprezível, pois aproximadamente o 95% da produção é consumido “*in natura*” CARVALHO *et al* 1998. A partir de 1989 as indústrias no Brasil passaram a aproveitar o suco extraído das cascas e extremidades da fruta (“mill juice”), prática tecnológica que aumentou 30% do rendimento total de suco (polpa- subprodutos) SAVITCI, 1995. Esta prática diminuiu as qualidades sensoriais (cor, sabor) e aumentou o risco

de contaminação por microrganismos, principalmente esporos de bolores termorresistentes, leveduras, bolores e coliformes, no suco integral e concentrado de abacaxi.

Os bolores termorresistentes, *Neosartoria fischeri*, *Talaromyces flavus*, *Bissochlamys fulva*, *Eupenicillium*, *Talaromyces bacillisporus*, *Talaromyces wortmanii*, *Penicillium* e outras mais (PIECKOVA *et al* 1997; KOTZEKIDOU, 1997) são habitantes do solo e importantes pela sua alta resistência a temperaturas e por contaminar produtos processados. Os fungos termorresistentes tem sido indicados repetidamente como causadores de deterioração em sucos e enlatados de frutas (TOURNAS, 1994) e em sucos integrais e concentrados de abacaxi já foi reportada a ocorrência (TOURNAS & TRAXLER, 1994 ; KING & HOLBROOK, 1987).

As leveduras também formam parte da microbiota natural de frutas e vegetais, e são a causa mais comum da deterioração dos sucos de frutas devido à sua elevada tolerância aos ácidos, altas concentrações de açúcar, e altas concentrações de sal, além da particularidade de muitas delas se desenvolverem anaerobicamente. Dentre as principais deteriorantes de sucos de frutas, a espécie *Z. baillii* merece destaque pela sua resistência a agentes químicos (PRAPHAILONG *et al*, 1997; UBOLDI, 1989. Em um estudo realizado por TOROK *et al*, (1991), o abacaxi na forma de sucos concentrados e sucos simples, foi o que maior incidência apresentou dentre as ocorrências de leveduras em frutas e vegetais. TCHANGO *et al.*, 1997 reportou presença de leveduras (*Candida pelliculosa* e *Kloeckera apis*) em sucos comerciais de abacaxi. A *Candida pelliculosa* tem alta resistência térmica e só foi destruída a 94°C/ 3,4min.

Outros microhabitantes do solo, os bolores, são os responsáveis por deteriorações em alimentos de frutas e vegetais. Os bolores formam parte da microbiota natural das frutas, são capazes de se desenvolver num amplo intervalo de pH e de atividade de água, são pouco exigentes em nutrientes, fundamentalmente são aeróbios e, em geral, apresentam baixa resistência térmica (UBOLDI 1989). Devido a esta ultima característica a ocorrência de bolores não é freqüente em produtos termicamente processados. Os esporos assexuados dos gêneros mais comuns de bolores, tais como: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Fusarium*, são destruídos completamente a 60°C por 5 minutos. As células vegetativas destes gêneros são também inativadas entre 5 e 10 minutos às mesmas temperaturas (TOURNAS 1994).

Outras microrganismos que também podem produzir deterioração em produtos processados são as bactérias. A ocorrência de bactérias em sucos de frutas pasteurizados tem sido reportada com pouca frequência, embora tenham sido isoladas algumas espécies lácticas em suco de manga, maçã e laranja UBOLDI, 1989. As análises microbiológicas de coliformes e coliformes fecais em sucos de frutas são realizadas visando um controle higiênico do processo e em vista da tolerância de algumas espécies de bactérias ao pH baixo (*E. coli*) e aos tratamentos térmicos (alguns patógenos fecais). O grupo coliforme compreende os gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, and *Klebsiella*. A *E.coli* por ser um organismo ácido tolerante tem sido considerado como parâmetro indicador de qualidade em alimentos de acidez moderada (PARKS *et al* 1998). Não tem sido encontrados dados na literatura que relacionem contaminação de sucos de abacaxi processados com bactérias. Estudos microbiológicos realizados em sucos comerciais de abacaxi não reportaram incidência de coliformes totais e fecais (EWAIDAH 1992; SOUZA *et al* 1974).

Sendo os esporos de bolores termorresistentes, bolores, leveduras e bactérias habitantes comuns da microbiota vegetal, é necessário um controle rigoroso da limpeza das frutas antes do processamento. As matérias primas de origem vegetal frequentemente apresentam porções de solo aderidos na sua superfície, as quais, se não forem removidas por uma lavagem adequada, podem transformar-se em um veículo de contaminação (UBOLDI, 1989).

Para a fabricação de produtos de alta qualidade é necessário monitorar todas as etapas do processo, principalmente no que diz respeito a limpeza da matéria prima e equipamentos (GRONBERG 1995) devido a que as sujidades aderem às superfícies de equipamento e matéria prima de um modo muito complexo. Elas podem enclausurar-se mecanicamente em poros, frestas ou quaisquer reentrâncias e são necessários métodos de limpeza e desinfecção adequados para garantir uma remoção de sujeiras e a diminuição da carga microbiana do produto. Os compostos de cloro por terem ação microbicida rápida e forte são amplamente utilizado nas etapas iniciais dos processamentos de frutas e outros produtos que provem do campo (HOGKING, 1984; UBOLDI 1989; KUNIGK, 1994). A etapa de lavagem com água clorada acompanhada por limpeza manual (esfregação) é muito importante para remover sujidades (orgânicas e inorgânicas) e reduzir os níveis de contaminação por microrganismos do produto REINOLD, 1996.

Considerando que o controle de microorganismos é muito importante para a qualidade geral de um produto, a saúde pública, a produtividade da empresa; e que a indústria de alimentos que não puder manter a contaminação do produto em níveis relativamente baixos, poderá ter rendimento industrial reduzido por causa da perda por deterioração e alta porcentagem de rejeição dos produtos no mercado o estudo teve como objetivos:

- Avaliar a influência do processamento térmico nos níveis totais de: bolores e leveduras, bactérias (coliformes fecais e totais) e fungos termorresistentes em suco obtido de subprodutos de abacaxi (cascas, extremidades)
- Determinar a influência da etapa de lavagem com hipoclorito de sódio, 5ppm e 100 ppm, na redução ou eliminação de esporos de bolores termorresistentes.

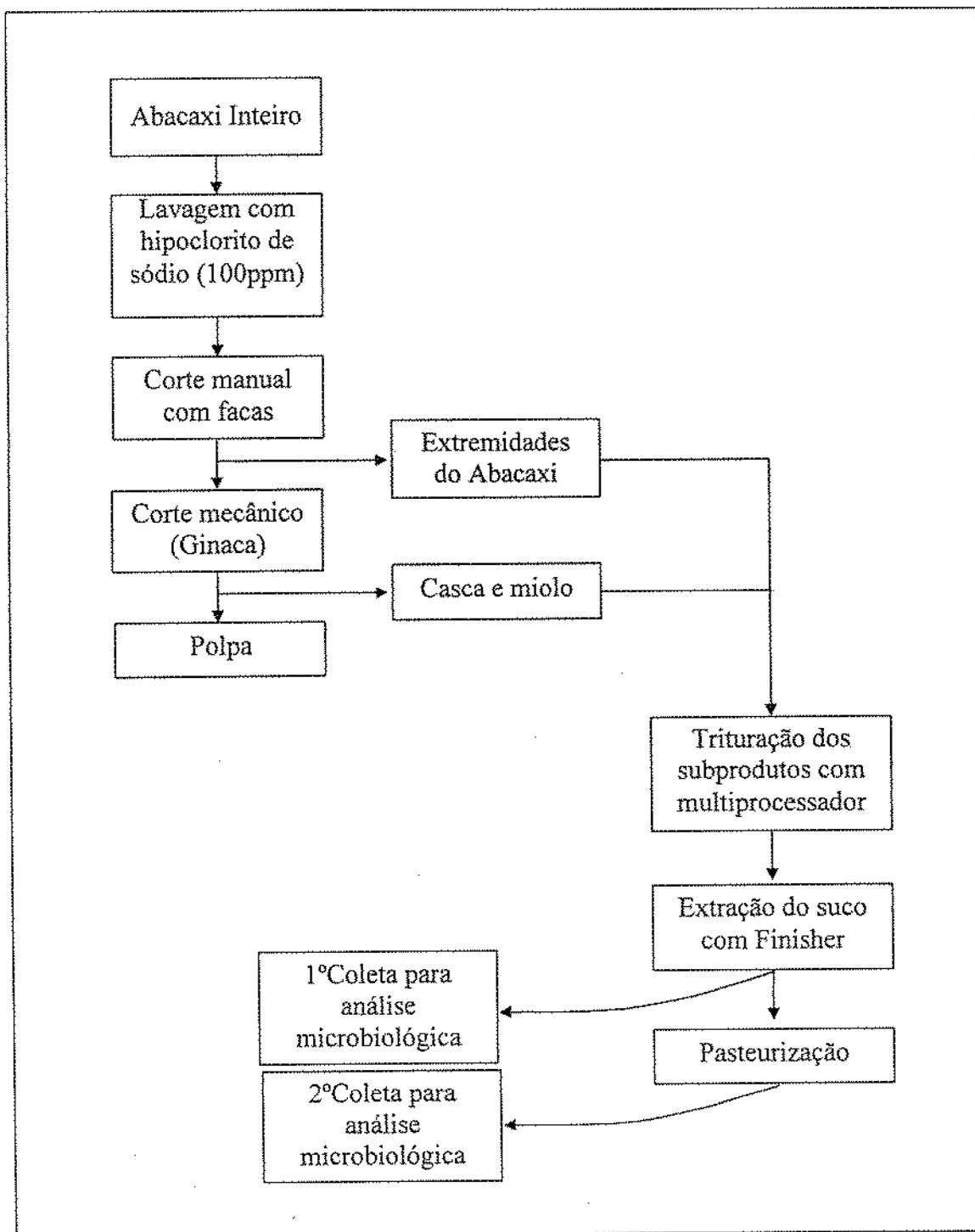
3 MATERIAL E MÉTODOS

O suco obtido dos subprodutos de abacaxi havaiano (*Smooth cayenne*) foi utilizado para fazer as análises microbiológicas. O abacaxi foi comprado no Ceasa de Campinas. Foram utilizados para a higienização e desinfecção das frutas, água clorada (5ppm e 100ppm de hipoclorito de sódio marca Suprema). Ao determinar o cloro ativo na água de lavagem pelo método (APHA, 1992), a solução preparada de concentração 100ppm apresentou na realidade 117 ppm, e a solução de 5 ppm apresentou 5,89ppm de cloro ativo.

3.1 PROCESSAMENTO A

Este processo corresponde ao estudo do efeito do tratamento térmico (91,5°C/30 segundos) na contagem total dos microorganismos (bolores e leveduras, coliformes totais e fecais e fungos termorresistentes). Os subprodutos de abacaxi (cascas, miolo, extremidades), foram processados na seguinte seqüência: Seleção de abacaxis inteiros e sadios, lavagem (100ppm de hipoclorito de sódio), corte manual das extremidades(faca), corte mecânico para separar a polpa dos subprodutos do abacaxi (*ginaca*), corte manual para reduzir o tamanho dos subprodutos (facas), trituração (multiprocessador), extração (finisher), pasteurização (pasteurizador tubular). O suco obtido foi dividido em duas partes: a primeira que corresponde às amostras colhidas antes da pasteurização (suco *in natura*) e a segunda às amostras do suco recolhidas após pasteurização. De cada parte foram colhidos 4 litros de amostra em embalagens estéreis. As análises das amostras foram feitas em duplicatas.

Todo o equipamento e materiais utilizados antes, durante e após o processamento com exceção do pasteurizado foi lavado com solução de hipoclorito de sódio (100 ppm). O pasteurizado foi lavado por circulação 2 vezes (antes e após o processamento) com solução de soda caustica (2%) e finalmente água quente.



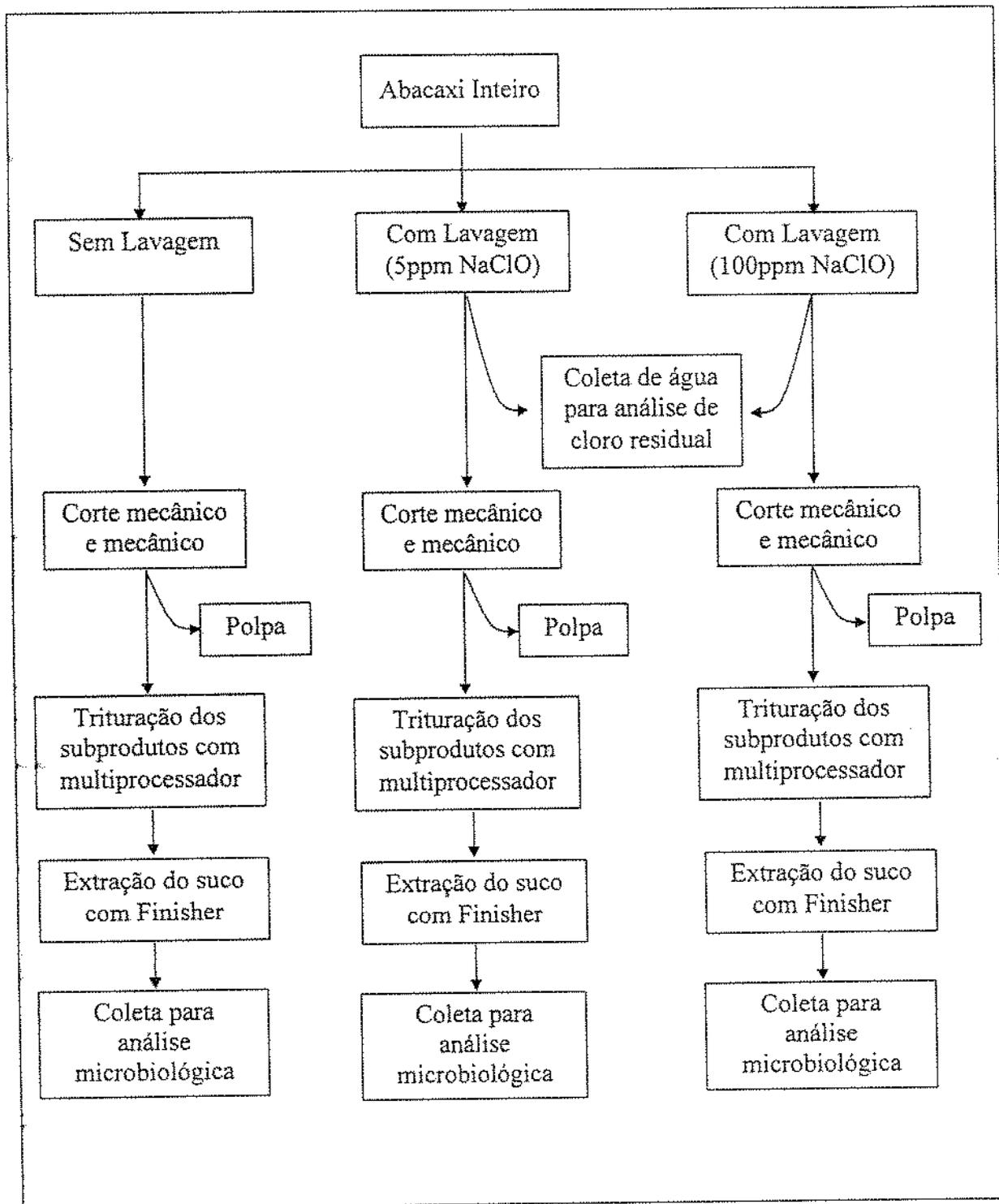
Fluxograma do processamento A .

3.2 PROCESAMENTO B

Para o efeito da avaliação da lavagem do abacaxi com solução de hipoclorito de sódio (5 e 100ppm) em relação à contagem de fungos termorresistentes foram processados outros 20 abacaxis.

Dividiu-se o processamento em 2 partes e a sua vez cada parte em dois lotes de 5 abacaxis cada um: uma parte correspondia ao lote que não seria submetido a lavagem e a outra parte corresponderia ao lote de abacaxis que foram submetidos a lavagem nas respectivas concentrações de hipoclorito de sódio.

No total foram realizados 4 processamentos: o primeiro lote processado foi o da fruta lavada com 100ppm de solução de hipoclorito de sódio e posteriormente o lote controle que não foi lavado. Seguidamente foram processados os lotes correspondentes a fruta lavada com 5ppm de hipoclorito de sódio e seu respectivo lote controle. Foram colhidas após extração 2 litros de amostras por lote. Nenhum dos 4 lotes de suco foi pasteurizado. As amostras foram recolhidas em embalagens estéreis e guardadas na geladeira entre (10-13°C) para serem analisadas no mesmo dia. Nestas 4 amostras só foi feita contagem total de termorresistentes, as análises foram feitas em duplicatas.



Fluxograma do processamento B.

3.3 METODOLOGIA DE ANÁLISE

3.3.1 MÉTODO A

Todas as análises para avaliar o efeito de tratamento térmico na qualidade microbiológica do suco foram feitas de acordo com a metodologia de VANDERZANT & SPLITTSTOESSER, (1992). A contagem de fungos termorresistentes foi realizada pela metodologia em placas que esta descrita na bibliografia acima citada.

3.3.2 MÉTODO B

Para reduzir ou eliminar esporos de bolores termorresistentes presentes nas cascas de abacaxi utilizou-se na água de lavagem uma solução de cloro nas concentrações de 5 ppm e 100 ppm. A atividade desta solução foi determinada pelo método iodométrico descrito pelo APHA (1992). Para fazer a contagem dos esporos restantes utilizou-se a metodologia em placas VANDERZANT & SPLITTSTOESSER, (1992).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos das análises microbiológicas de bolores e leveduras, coliformes totais e fecais e dos bolores termorresistentes determinados em suco extraído dos subprodutos de abacaxi ("mill juice") estão apresentado na TABELA 1.

Tabela 1- Valores médios das contagens de microrganismos dos sucos "mill juice" pasteurizados (91,5°C/30s) e *in natura*.*

Microrganismos	"mill juice" <i>in natura</i>	"mill juice" pasteurizado
Bolores e leveduras	1,9 x 10 ⁶ UFC/g	Ausência
Coliformes Totais	46 NMP/g	< 1 NMP/g
Coliformes fecais	<0,3 NMP/g	Ausência
Fungos termorresistentes	46 (UFC/100ml de suco)	1(UFC/100ml de suco)

* Médias de duplicatas.

A avaliação microbiológica do suco “mill juice” pasteurizado está dentro dos parâmetros microbiológicos estabelecidos pela pelo código Sanitário do Estado de São Paulo (1992) para sucos processados. Resultados similares foram obtidos por (EWAIDAH 1992; SOUZA et al 1974) em sucos de abacaxis comerciais que não reportaram nenhuma contaminação por microorganismos em sucos de abacaxi pasteurizados. O código Sanitário estabelece os seguintes padrões para sucos integrais pasteurizados de abacaxi:

- Bactérias do grupo coliforme: máximo 10^2 /ml
- Bactérias do grupo coliforme de origem fecal: ausência em 1 ml.
- Bolores e Leveduras: máximo, 10^2 /ml.

Em relação aos resultados encontrados na contagem de esporos de fungos termorresistentes, não existem padrões para estabelecer limites de presença de fungos termorresistentes nos códigos federais e estaduais do Brasil, nem nos organismos internacionais.

Resultados práticos indicam que, para suco de maracujá, uma contaminação inferior a 2 ascósporos/100ml de suco é desprezível no que se refere ao seu reflexo sobre o produto final. Um critério geral adotado pelos processadores de sucos, em vários países do mundo, é a ausência de ascósporos de bolores termorresistentes em 100ml de suco (HODKING, 1984).

Foram detectadas com maior frequência no suco ““mill juice”” *in natura* e posteriormente isoladas e identificadas as espécies: *Talaromyces bacillisporus* C.R Benjamin, *Eupenicillium*, e *Penicillium* (CBS, 1998)

Analisando o segundo item estudado neste trabalho sobre a influencia do hipoclorito de sódio (concentrações de 5ppm e 100 ppm) na diminuição de microorganismos termorresistentes presentes no “mill juice” a tabela 2 apresenta os resultados.

Tabela 2- Influência do hipoclorito de Sódio (5 ppm e 100ppm) na eliminação de esporos fungos termorresistentes. Valores médios de duplicatas.

Concentração (ppm)	Contagem de esporos (UFC/100ml suco)
5	22
Controle 1*	22
100	3
Controle 2*	2

* As amostras controle correspondem a amostras lavadas sem adição de NaClO.

Este estudos pelos resultados obtidos indicam que o cloro não influiu na redução da contagem de termorresistentes, resultados similares foram encontrados (Ito, 1972) citado por TOURNAS, 1994 onde esporos de *Byssochlamys* sobreviveram a tratamentos com 200 ppm de cloro. MOZOLLIER 1988 sugere que o efeito reduzido do cloro na inativação de microrganismos pode ser devido às ceras presentes nas cascas de frutas e vegetais. O abacaxi possui 1,4% de cera bruta nas cascas COLLINS (1960) além de ter uma morfologia rugosa e fendas onde os esporos podem ficar menos sujeitos á ação abrasiva da bucha ao arraste com água e ao efeito germicida do cloro. TOURNAS (1994), sugere que a remoção mecânica das sujeiras presentes nas frutas poderia ser a mais efetiva forma de reduzir a incidência de contaminação por fungos termorresistentes e de acordo aos resultados obtidos pode-se acrescentar que esta remoção deveria ser otimizada para cada fruta, pois a morfologia difere muito de uma para outra.

5 CONCLUSÃO

Concluimos então que o suco de ““mill juice”” obtido após pasteurização a 91,5°C/30s está dentro dos limites aceitáveis de acordo aos códigos brasileiros e do CODEX internacional e que é um produto inócuo do ponto de vista microbiológico. O suco ““mill juice”” *in natura* esta fora dos padrões estabelecidos nos códigos. O uso de concentrações de cloro ativo 5 ppm e 100ppm utilizadas na etapa de lavagem do abacaxi não influenciaram na eliminação e redução de esporos de fungos termorresistentes.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA- AWWA-WPCF. Standars methods for the examination of water an wastewater. 18 ed. APHA, Washington, D.C., 1992.
- CARVALHO, L.M., SILVA, C.B, PIERUCCI, A.P., Clarification of pineapple juice (*Ananas comosus* L Merryl) by ultrafiltration and microfiltration: Physicochemical evaluation of clarified juices, soft drink formulation, and sensorial evaluation J. Agric. Food Chem. v. 46, n. 6, p. 2185-2189, 1998.
- CBS: Central bureau voor schimmel cultures. Baarn, Neatherland, 1998.
- CÓDIGO SANITÁRIO, 5ed. São Paulo-IMESP, 1992.
- COLLINS, J.L., By-products In: THE PINEAPPLE: Botany, Cultivation, and Utilization . 1. Ed. New York, USA: Interscience Publishers Inc. 1960. P. 246-257.
- EWALDAH, E.H., Studies on commercially canned juices produced locally in Saudi Arabia: Part 3- Physicochemical, organopetic and microbiological assessment, Food Chemistry v. 44. p. 103-111, 1992
- FAO. Disponível: site FAO <http://apps.fao.org/lim500/nph-wrap.pl> Consultado em 4 ago. 1998.
- GRONBERG, R., Calidad en el procesamiento de jugos Industria Alimenticia v. 6. n. 2, p. 34-39, 1995.
- HOGKING, A.D., PITT, I.J., Food spoilage fungi.II.Heat resistant fungi. Csiro Food Res. v.44, n.4, p. 73-82. 1984.
- KING JR, A.D., HALBROOK, W.U., Ascospores heat resistance and control measures for *Talaromyces flavus* isolated from fruit juice concentrate Journal of Food Science v. 52, n. 5, p. 1252-1256, 1987.
- KORTBECH- OLESEN, R., Tropical fruit products: a well established market. International Trade FORUM n. 3, p.10-35, 1996.

- KOTZEKIDOU, P., Heat resistance of *bissochlamys nivea*, *bissochlamys fulva* and *neosartorya fischeri* isolated from canned tomato paste. Journal of Food Science v.62, n.2, p. 410-412, 1997.
- KUNIG, L., Limpeza e sanificação na indústria alimentícia, Curso organizado por Instituto Mauá de tecnologia e SEBRAE-SP , 1994.
- MAZOLLIER., Microbiological decontamination of MPF fruits and vegetables by washing and sanitizing Infos- Ctifl v. 41, n. 19, 1988.
- PARKS, K.M, INGHAM, S.C., Survey of coliforms and enterococci in retail swiss cheese: Ramification for choice of sanitation indicator organism and enumeration method Dairy Food and Environmental sanititation, v. 18, n. 6, p. 346-351, 1998
- PIECKOVÁ, E., JESENKÁ, Z., Toxinogenicity of heat- resistant fungi detected by a bio-assay International Journal of Food Microbiology n. 36, p. 227-229, 1997.
- REINOLD, M.R., Limpeza e desinfecção garantem a qualidade microbiologica da cerveja Engarrafador Moderno n. 44, p. 29-34, 1996.
- SAVITCI, L.A., GASPARINO FILHO, J., MORETTI, V.A Perfil Industrial e de Mercado para Suco de Abacaxi. Colet. Ital, v. 25, n.2, p. 153-168, 1995.
- SOUZA JR, A.J., ANGELUCCI, E., LEITÃO, M.F, YOKOMIZO, Y., LARA, J.C Avaliação química e microbiológica de sucos de frutas brasileiras existentes no mercado Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos v. 39, p. 43-71, 1974
- SPLITTSTOESSER, D.F., CHUREY, J.J. Activation and Germination of *Neosartorya* Ascospores In: Samson, R.A, Hocking A.D, Pitt J.I and King A.D. Modern Methods in Food Micology , Netherlands: Elsevier, 1992. cap 4, p.169-176.
- TCHANGO, J.T.,TAILLIEZ, R., EB, P., NJINE, T., HORNEZ, J.P., Heat resistance of the spoilage yeast *Candida pelliculosa* and *Kloeckera apis* and pasteurization values for some tropical fruit juices and nectars Food Microbiology v. 14, p. 93-99, 1997.
- TOROK, T., KING JR, A.D., Comparative study on the identification of Food- Borne Yeast Applied and Environmental Microbiology v. 57, n. 4, p. 1207-1212, 1991.

TOURNAS, V., TRAXLER, R.W., Heat-resistant of a neosartorya fischeri strain isolated from pineapple juice frozen concentrate. Journal of Food Protection v.57, n.9, p. 814-816, 1994.

TOURNAS, VALERIE., Heat-Resistant fungi of importance to the food and beverage industry. Critical Reviews in Microbiology .v.20, n.4, p. 243-263, 1994.

UBOLDI EIROA, N.M., Microorganismos deteriorantes de sucos de frutas e medidas de controle. Bol. S.B.C.T.A , Campinas, v. 23, p. 141-160, 1984.

VANDERZANT, C., SPLITTSTOESSER, D., Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3ed. American Public Health Association, 1992, 1219 p.

CAPÍTULO 3A –

BOLORES TERMORESISTENTES

Os bolores formam parte da microbiota natural das frutas, sendo capazes de se desenvolver num amplo intervalo de pH e de atividade de água, são pouco exigentes em nutrientes. Fundamentalmente são aeróbios e, em geral, apresentam baixa resistência térmica (UBOLDI 1989).

Os esporos assexuados dos gêneros mais comuns de bolores, tais como: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Fusarium*, são destruídos completamente a 60°C por 5 minutos. As células vegetativas destes gêneros são também inativados entre 5 e 10 minutos às mesmas temperaturas (TOURNAS 1994).

1 BOLORES TERMORRESISTENTES.

São microrganismos potencialmente deteriorantes em alimentos vegetais processados, e são reconhecidos como importantes agentes de deterioração em sucos e produtos de frutas no mundo inteiro UBOLDI (1989). Entre as principais espécies de fungos termorresistentes reportadas têm-se os membros dos gêneros: *Neosartorya*, *Bissochlamys*, *Talaromyces* e *Eupenicillium* (KOTZEKIDOU, 1997). Seus esporos são sexuados e seus gêneros apresentam duas fases: teleomórfica e anamórfica.

Os bolores termorresistentes devem a sua alta resistência ao calor à produção de um estado de fase teleomórfica comumente conhecido como estado esporulado de bolor. Nesta fase os esporos são sexuados e têm características bem definidas (HOGKING, 1984). Ex: O gênero *Neosartorya* apresenta na fase teleomórfica ascósporos termorresistentes capazes de sobreviver 60 minutos em água de ebulição; *Talaromyces* é outro gênero que pode sobreviver de 5 a 12 minutos nas mesmas condições (TOURNAS1994).

2 HABITAT

Os bolores termorresistentes são habitantes do solo. As matérias primas de origem vegetal frequentemente apresentam porções de solo aderidos na sua superfície, que se não forem removidas por uma lavagem adequada, podem transformar-se em um veículo de contaminação (UBOLDI, 1989).

Em um estudo feito por SPLITTSTOESSER (1971) em 9 campos e 15 vinhedos, foram colhidas 99 amostras de várias frutas, vegetação e solo; 70% das amostras coletadas estavam contaminadas por espécies de microorganismos termorresistentes.

Hull 1939, citado por TOURNAS (1994), pesquisou a incidência de bolores termorresistentes em distintas partes de uma árvore frutífera de morango, folhas, frutos e palhas e achou que partes de plantas e frutos que estavam mais próximas ao solo foram as mais contaminadas.

3 RESUMO CRONOLÓGICO DE OCORRÊNCIAS DE FUNGOS TERMORRESISTENTES EM CONSERVAS E FRUTAS IN NATURA.

No ano de 1930 (Inglaterra), foi mencionada a primeira ocorrência de fungos termorresistentes após tratamento térmico de morangos em conserva. Mais tarde, descobriram que tratava-se de um fungo da espécie *Bissochlamys*. Neste mesmo ano Hull propôs o primeiro mecanismo de prevenção para evitar a contaminação por fungos termorresistentes Olliver e Rendle (1934), Hull (1939) citados por HOGKING & PITT (1984)

Nos anos de 1964 e 1965 (Austrália), detectaram-se os *Bissochlamys* sp. em morangos processados termicamente, e também em maracujá, mangas e abacaxis (Spurgin 1964, citado por HOGKING 1984).

No ano de 1967 (Estados Unidos), foi isolada a espécie *Bissochlamys* de uma bebida de frutas enlatada (Splittstoesser 1969 citado por TOURNAS 1994)

Nos anos de 1968-1969 (Canada), foram encontradas em cultura de uvas algumas espécies de fungos termorresistentes entre elas o *Bissochlamys* (SPLITTSTOESSER, 1971).

Entre os anos de 1958-1968 na Alemanha, Holanda e Irlanda foram detectados e reportados fungos termorresistentes em produtos enlatados de morango (TOURNAS, 1994).

Na década de 70, continuaram sendo apresentadas ocorrências por contaminação de fungos termorresistentes, principalmente nas frutas não processadas, como cerejas, uvas. Nesta década também foram testados nos Estados Unidos métodos de prevenção para diminuir a incidência de fungos termorresistentes na carga inicial das frutas que seriam processadas (SPLITTSTOESSER, 1974).

No final da década de 70 e início da de 80, os fungos termorresistentes passaram a ser mais estudados. Um trabalho detalhado da composição química dos ascósporos de *Bissochlamys fulva* foi realizado por Banner *et al*, (1979). Na Dinamarca, foi publicado um trabalho sobre a produção de toxinas de fungos (NIELSEN *et al*, 1988).

Um fato muito importante na década de 80 foi o interesse de pesquisadores do Brasil no estudo destes fungos. Uboldi e Amstaldem (1985) citados por UBOLDI (1989) realizaram um estudo na região de Campinas sobre a incidência de termorresistentes nos campos. ARAGÃO (1989), mais tarde, isolou e estudou algumas espécies de fungos termorresistentes.

Nos anos 90 os estudos destes fungos não cessaram e as ocorrências também não. TOURNAS & TRAXLER (1994) isolaram *Neosartoria* sp. em um suco congelado e concentrado de abacaxi. Na Índia, esta mesma espécie foi isolada de mamão *in natura*. (RAJASHAKARA *et al*, 1996). Neste mesmo ano, SURESH (1996), em outra pesquisa, isolou *Neosartorya fischeri* de uvas *in natura*.

O objetivo principal desta revisão é deixar em evidência que a ocorrência de fungos termorresistentes em produtos termicamente processados e em produtos *in natura* é uma realidade e que as devidas precauções têm que ser tomadas.

4 PERIGOS QUE APRESENTAM OS FUNGOS TERMORRESISTENTES AOS PRODUTOS PROCESSADOS E À SAÚDE PÚBLICA.

4.1 AOS PRODUTOS

O fato de os fungos termorresistentes estarem presentes no solo faz com que o alimento cultivado nele seja um veículo potencial de contaminação, principalmente quando o produto recebe um tratamento térmico relativamente brando (RAJASHAKARA, 1996).

Os fungos termorresistentes são deteriorantes, podendo alterar o aroma, cor, sabor, consistência, estabilidade, turbidez, distribuição de partículas etc. A origem destas alterações é provavelmente a produção de enzimas como amilases, pectinases e proteinases por estes microrganismos (TOURNAS, 1994).

4.2 À SAÚDE PÚBLICA

Alguns microrganismos termorresistentes produzem micotoxinas, por exemplo a patulina, que é um metabólito secundário de alguns fungos.

Têm sido encontradas evidências de toxicidade deste metabólito aos microrganismos, plantas e animais e suspeita-se de que seja um perigo a saúde dos humanos.

Experimentos em ratos indicaram ser esta toxina um agente carcinogênico potencial para animais e humanos (Raistrick *et al* 1943) citados por TOURNAS (1994). Verificou-se que concentrações de 0,1 até 0,00012% de patulina são tóxicas aos leucócitos e 10ug do mesmo metabólito inibe culturas de células fibroblásticas e de coração.

O ácido bissoclâmico inibe algumas enzimas muito importantes nos ciclos vitais de todo organismo vivo e, em grandes doses, é tóxico para animais de laboratório (KING *et al*, (1972).

Bissotax, assimetrina e variotina são outras toxinas produzidas por fungos. Fumitremorgina A,B,C e verrucológeno agem sobre o Sistema Nervoso Central, provocando tremores, convulsões e morte em animais. O mais tóxico de todos é o verrucológeno. Estes três são produzidos pela *Neosatorya fischeri*. A fischina provoca peritonite letal em ratos. A euperifeldrina é uma toxina produzida pelo *Eupenicillium brefeldianum*, é citotóxica, embora tenha *in vivo* uma atividade antitumoral segundo dados recentemente publicados por Fujimoto (1993) citado por TOURNAS 1994.

5 LIMITES ACEITÁVEIS DE CONTAMINAÇÃO POR BOLORES TERMORRESISTENTES

Para estabelecer um limite de aceitação de ascósporos de bolores termorresistentes devem ser considerados os vários aspectos que influenciam a contaminação do produto final..

- 1.- O nível de contaminação das matérias-primas com ascósporos.
- 2.- Que matéria ou matérias-primas serão o principal ingrediente.
- 3.- Se o produto final será ou não adicionado de conservadores.
- 4.- Se o suco será ou não concentrado, congelado ou submetido a tratamento térmico.

Resultados práticos indicam que para suco de maracujá uma contaminação inferior a 2 ascósporos/100ml de suco é desprezível no que se refere ao seu reflexo sobre o produto final. Para produtos que sejam constituídos por misturas de sucos, que contenham elevada proporção de suco de maracujá, que não contenham conservantes e que sejam destinadas a

processamento UHT deve-se exigir uma população baixa de ascósporos. Um critério geral adotado pelos processadores de sucos em vários países do mundo é a ausência de ascósporos de bolores termorresistentes em 100ml de suco (HOGKING & PITT 1984; UBOLDI, 1989).

Antes de analisar a proposta feita por nós para a redução ou eliminação de fungos termorresistentes apresentaremos as diferentes tecnologias que estão sendo empregadas atualmente com a finalidade de eliminar a incidência de contagem alta de microrganismos termorresistentes deteriorantes.

6 MEDIDAS DE PREVENÇÃO PARA EVITAR RISCOS DE CONTAMINAÇÃO POR FUNGOS TERMORRESISTENTES.

As seguintes tabelas, que são um resumo do trabalho de SPLITTSTOESSER (1974), são ferramentas de prevenção para o processador de frutas que quer reduzir a carga inicial de microrganismos deteriorantes nelas presentes. Estas medidas de prevenção devem ocorrer antes do processamento.

Tabela 1- Incidência de *Bissochlamys* sobre cerejas vermelhas cultivadas por vários procedimentos.*

Fonte	Método de Colheita	Nº Amostras	Esporos/100g
Empresa 1	Mão	14	23
	Máquina	5	14
Empresa 2	Mão	11	4.9
	Máquina	8	5.4
Campo/Cultura	Mão(cond. assépticas)	25	1.0

* Segundo Splitttoesser (1974).

Tabela.2.- Método de Transporte *versus* nível de contaminação de *Bissochlamys* *

Amostra	Nº de Cultivos	Esporos/100g
Fruta transportada seca	14	21
Fruta transportada em tanques com água entre (10-14°C)	24	9.8
Água de transporte	22	6.5

* Segundo Splitttoesser (1974).

Os resultados obtidos no estudo apresentados nas TABELAS (1,2) sugerem que as principais medidas para prevenção de microrganismos termorresistentes antes do processamento são: a forma de colheita, transporte classificação e lavagem da fruta.

É muito importante, antes de processar uma fruta, saber estabelecer padrões apropriados nas diferentes etapas do processo. Um rigoroso controle nas etapas iniciais garante um produto final de boa qualidade.

As etapas que devem ser controladas envolvem a escolha do terreno onde vai ser plantado o abacaxi, a escolha das mudas, que têm que ser sadias, uma orientação profissional que preste assistência ao plantador na aplicação de agrotóxicos controlando as dosagens, tempo de aplicação e tempo de carência de cada agrotóxico

Na etapa da colheita, os métodos têm que ser criteriosamente aplicados para evitar o aumento da população microbiana natural da parte externa da fruta (Vide TABELA 1). A forma de transportar a fruta deve ser bem controlada para garantir que esta chegue à indústria em condições ótimas; os caminhões devem ser higienizados e devidamente protegidos (Vide TABELA 2). A recepção da fruta na indústria deve ser realizada de preferência em lugares fechados, arejados e longe de poeira e terrenos secos, onde o vento possa ser um veículo de contaminação até a fruta.

De qualquer forma teremos a presença de bolores, leveduras e bactérias, além de microorganismos termorresistentes próprios da microbiota de uma fruta que esteve perto do solo e cresceu em um ambiente que possui singular microbiota influenciada indistintamente por fatores ambientais.

Fazendo estudos repetidos de aplicações de técnicas simples de controle visando a diminuição da contaminação da fruta, os resultados serão eficientes e os processadores aplicarão tratamentos químicos e térmicos menos severos à fruta; logo, reduzir-se-á o uso de conservantes e principalmente manter-se-ão as características próprias da fruta como cor, odor e sabor, que se perdem em grande parte com os tratamentos térmicos drásticos

7 OTIMIZAÇÃO DA ETAPA DE LAVAGEM.

7.1 EFEITO DO HIPOCLORITO DE SÓDIO SOBRE OS MICRORGANISMOS TERMORRESISTENTES.

Recomenda-se como medida preventiva para o controle da deterioração por fungos termorresistentes lavar as frutas em água contendo 100 ppm de hipoclorito de sódio (UBOLDI, 1989, HODKING & PITT, 1984). É questionável o efeito do hipoclorito na destruição ou inativação dos esporos termorresistentes pois na etapa de lavagem tanto a água como as escovas que são utilizadas para remover a sujeiras das frutas podem ser as responsáveis pela redução da contagem de esporos principalmente em frutas lisas. King *et al* 1969 citado por TOURNAS, 1994 reportaram que esporos de fungos da espécie *Bissoclamys fulva* resistiram a ação de 200 ppm de cloro ativo. A ineficácia do hipoclorito em soluções aquosas pode ser devido à superfície hidrofóbica das frutas e vegetais que possuem ceras na cutícula que se comportam como biofilmes protetores contra os agentes letais do cloro MAZOLLIER, 1988.

8 TECNOLOGIAS UTILIZADAS PARA ELIMINAÇÃO DE BOLORES TERMORRESISTENTES

8.1 APLICAÇÃO DE AGENTES FUNGICIDAS

Entre os agentes antimicóticos mais pesquisados para a redução de fungos termorresistentes, estão o sorbato de potássio e o benzoato de sódio.

Os efeitos inibitórios do benzoato de sódio e do sorbato de potássio são maiores a valores de pH mais baixos, já que as formas ativas dos conservadores ácidos são as estruturas não dissociadas.

A pH 3,5, 83% do benzoato e 95% do sorbato encontram-se na forma não dissociada, entretanto a pH 5,4 as formas não dissociadas são 6% e 19% respectivamente (TOURNAS, 1994).

Em sucos de uvas, a adição de 250 mg de sorbato de potássio inibia o crescimento de *Bissochlamys fulva* por 16 dias (King *et al* 1969 citado por TOURNAS, 1994).

Esporos de *Bissochlamys fulva* foram completamente inibidos por 60 dias pela adição de 400 ppm de Sorbato de potássio; entretanto só houve retardo do crescimento com 1000ppm de benzoato de sódio (Beuchat 1976 citado por TOURNAS, 1994).

Neosartorya cresce com 100mg /L de benzoato de sódio entretanto os outros gêneros não crescem (*Bissochlamys*, *Eupenicillium*, *Talaromyces*). NIELSEN, 1991.

Gillespe (1938) citado por TOURNAS (1994), reportou que menos de 3ppm de SO₂ reduz a resistência térmica de *Bissochlamys*, desde que o pH seja menor que quatro.

Beuchat (1976) citado por TOURNAS (1994), observou uma completa inibição quando 200 ppm de SO₂ foram utilizados em PDA a pH 3,5.

NIELSEN (1991) reportou que 300 mg/L de SO₂ inibia todas as espécies a pH 3,5.

8.2 ALTAS PRESSÕES

Esta técnica foi utilizada visando eliminar as 4 espécies mais conhecidas de esporos de fungos termorresistentes, *Bissochlamys fulva*, *Bissochlamys nivea*, *Neosartorya fischeri* e *Talaromyces flavus*. Os ensaios foram realizados inoculando as espécies em néctar de damasco, e as pressões utilizadas foram 7000, 8000 e 9000 bar. O melhor resultado foi obtido com o processo de pré aquecimento do suco a 60°C, seguido por aplicação de uma pressão de 7000 bar por um tempo de 1 e 2 minutos. Todas as quatro espécies foram inativadas (MAGGI *et al*, 1994).

8.3 FILTRAÇÃO

Utilizando terras de diatomáceas na filtração dos sucos, King *et al* (1969), citado por TOURNAS (1994), registraram que 99,95% de ascósporos de *Bissochlamys fulva* foram removidos desta forma. O mesmo pesquisador sugere que ascósporos de *Talaromyces flavus* podem ser facilmente removidos pela filtração devido ao seu grande tamanho.

Considerando que a maioria dos sucos são filtrados antes de serem concentrados, neste caso a filtração pode ser um método prático para remover esporos, mas seriam necessárias precauções para evitar a recontaminação dos sucos filtrados KING *et al*, 1987.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAGÃO, G.M., Identificação e determinação da resistência térmica de fungos filamentosos termorresistentes isolados de polpa de morango. Campinas, 1989, p.139. Tese: (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas.
- HOGKING, A.D., PITT, I.J., Food spoilage fungi.II.Heat resistant fungi. Csiro Food Res. v.44, n.4, p. 73-82. 1984.
- KING JR, A.D., BOOTH, A.N., STAFFORD, A.E., WAISS JR, A.C., *Byssochlamys fulva*, Metabolite toxicity in laboratory animals Journal of Food Science v. 37, p. 86-89, 1972
- KING JR, A.D., HALBROOK, W.U., Ascospores heat resistance and control measures for *Talaromyces flavus* isolated from fruit juice concentrate Journal of Food Science v. 52, n. 5, p. 1252-1256, 1987.
- KOTZEKIDOU, P., Heat resistance of *bissochlamys nivea*, *bissochlamys fulva* and *neosartorya fischeri* isolated from canned tomato paste. Journal of Food Science v.62, n.2, p. 410-412, 1997.
- MAGGI, A., GOLA, S., SPOTTI, E., RAVERE, P, MUTTI, P., Trattamenti ad alta pressione di ascospore di muffe termoresistenti di patulina in nettare di albicoca e in acqua. Industrie Conserve. v.69, n.1, p.26-29, 1994.
- MAZOLLIER., Microbiological decontamination of MPF fruits and vegetables by washing and sanitizing Infos- Ctifl v. 41, n. 19, 1988.
- NIELSEN, P.V., Preservative and temperature effect on growth of three varieties of the heat-resistant mold, *Neosartorya fischeri*, as measured by na impedimetric method Journal of Food Science, v.56, n. 6, p. 1735-1740, 1991.
- NIELSEN, P.V., BEUCHAT, L.R., FRISVAD J.C. Growth of and fumitremorgin production by *neosartorya fischeri* as affected by temperature, lighth and water activity. Applied and Environmental Microbiology. v.54, n.6, p. 1504-1510, 1988.
- SPLITTSTOESSER, D.F., KUSS, F.R., HARRISON, W., PREST, D.B. Incidence of heat-resistant molds in eastern orchards and vineyards. Applied Microbiology. v.21, n.2, p. 335-337, 1971.

SPLITTSTOESSER, D.F., DOWNING, D.L, ROGER, N.F., MURDORK D.I., Influence of the harvest method on contamination of fruit by bissochlamys ascospores. Journal Milk Food Technology v.37, n.8. p. 445-447, 1974.

TOURNAS, V., TRAXLER, R.W., Heat-resistant of a neosartorya fischeri strain isolated from pineapple juice frozen concentrate. Journal of Food Protection v.57, n.9, p. 814-816, 1994.

TOURNAS, VALERIE., Heat-Resistant fungi of importance to the food and beverage industry. Critical Reviews in Microbiology .v.20, n.4, p. 243-263, 1994.

UBOLDI EIROA, N.M., Microorganismos deteriorantes de sucos de frutas e medidas de controle. Bol. S.B.C.T.A , Campinas, v. 23, p. 141-160, 1984.

CAPÍTULO 3B –

ATIVACÃO E GERMINAÇÃO DE ESPOROS

TERMORRESISTENTES: Tecnologia alternativa para reduzir a contagem de esporos termorresistentes no “MILL JUICE” (suco obtido dos subprodutos industriais do abacaxi *Smooth cayenne*)

1 RESUMO

Diversas tecnologias tem sido propostas para eliminar ou reduzir a incidência de fungos termorresistentes nos produtos termicamente processados. Este trabalho propõe uma tecnologia alternativa, que consiste em catalisar a germinação *in vivo*, (os fungos termorresistentes presentes nas cascas do abacaxi *Smooth cayenne*), da forma esporulada termorresistente para sua forma vegetativa termosensível. Os abacaxis inteiros, após a lavagem foram submetidos a choque térmico com jato de vapor (ativação dos esporos), Seguidamente foram colocados no tanque de germinação a temperatura constante. Após tratamento foram enxaguados com água corrente e processados. As condições de germinação utilizadas foram: temperatura constante do tanque de germinação 40°C, ativação dos esporos a 95-97°C por 30 segundos , concentração de NaCl (2% -5%), tempo de germinação (2-5 horas). O experimento foi delineado estatisticamente pela metodologia da superfície de resposta. Foram feitos onze experimentos, escolhidas duas variáveis independentes (tempo e concentração de sal) e uma variável dependente (porcentagem de germinação). Os resultados foram avaliados fazendo uma comparação na contagem de esporos termorresistentes do suco não pasteurizado (extraído dos abacaxis submetidos a tratamento de germinação dos esporos presentes nas cascas) com um suco controle. Os resultados apresentaram uma diminuição variável de esporos termorresistentes em aproximadamente 73% dos tratamentos, sendo que dos 2 tratamentos apresentaram melhores resultados de porcentagem de germinação (88,9%): Concentração de NaCl 5%, tempo de germinação 2 horas e NaCl 5,4%, tempo 2 h/30min. As análises estatísticas demonstraram que a variável (tempo de germinação) teve maior influência na porcentagem de germinação que a concentração de sal, embora o efeito isolado da variável seja menor que o efeito da interação (tempo- concentração de sal).

2 INTRODUÇÃO

Os fungos termorresistentes são microorganismos potencialmente deteriorantes em alimentos vegetais processados, e são reconhecidos como importantes agentes de deterioração em sucos e produtos de frutas no mundo inteiro (UBOLDI, 1989; SCOTT *et al*, 1987; MAGGI *et al*, 1994). Estes microorganismos são habitantes comuns do solo (SPLITTSTOESSER, 1970; JESENSKÁ *et al*, 1992).

Entre as principais espécies de fungos termorresistentes reportadas temos os membros dos gêneros: *Neosartorya*, *Bissochlamys*, *Talaromyces* e *Eupenicilium*, (KOTZEKIDOU, 1997).

Além da resistência ao calor a maioria das espécies de fungos termorresistentes produzem metabólitos tóxicos prejudiciais à saúde (PIECKOVÁ *et al*, 1997; MOGGI *et al*, 1994).

Devido à incidência generalizada de microorganismos termoresistentes em produtos processados, tem sido utilizadas algumas tecnologias para eliminar ou reduzir a presença destes nos produtos. Já foram utilizadas a tecnologia de altas pressões MAGGI *et al* (1994), filtração, utilizando terra de diatomáceas KING *et al*, (1987) e aplicação de conservantes NIELSEN (1991). Todas foram bem sucedidas embora onerosas para serem aplicadas em produção de sucos em pequena escala. A utilização de conservantes químicos é muito freqüente por ser a mais prática e menos onerosa, embora a tendência de sua aplicação em sucos integrais, concentrados, e sucos embalados assepticamente esteja cada vez mais restringida.

Nos ensaios iniciais para avaliar o rendimento do “mill juice” foram detectados microorganismos termorresistentes da espécie *Talaromyces*, *Eupenicilium*, *Penicilium*. De acordo com os dados da literatura a presença destas espécies poderia ter efeito deteriorante no produto. Em função disso pensou-se em uma tecnologia que elimina ou reduza a contagem de esporos termorresistentes sem alterar as propriedades sensoriais do suco, e ao mesmo tempo que evite o uso de conservantes químicos e apresente uma alternativa tecnológica de baixo custo.

A tecnologia proposta esta fundamentada nos princípios da tindalização, e consiste na ativação e germinação *in vivo* de ascósporos termorresistentes presente nas cascas de abacaxi,

utilizando um catalisador inorgânico (NaCl). A tecnologia foi adaptada e modificada, do trabalho realizado por SPLITSTOESSER & CHUREY (1992), da ativação e germinação *in vitro* de esporos da espécie termorresistente *Neosartoria*

A germinação é um processo pelo qual um esporo é transferido de seu estado de dormência e de baixa atividade metabólica a um estado de alta atividade. Esta alta atividade é refletida na ativação de processos produtores de energia que são necessários para a síntese de proteína e subsequente germinação. A ativação de processos produtores de energia, requerida para a germinação, pode ser estimulada pelo calor, aplicação de químicos, luz, etc. Ela caracteriza-se pelas altas velocidade de respiração Gotlieb, 1964 citado por TOURNAS, 1994.

Os esporos termorresistentes são sexuados e seus gêneros apresentam duas fases: teleomórfica e anamórfica. A fase teleomórfica, comumente conhecido como estado esporulado de bolor, é responsável pela resistência ao calor do fungo, sendo a fase anamórfica menos resistente (HOGKING, 1984). Cada espécie termorresistente pode se apresentar na natureza nas duas fases. Nosso objetivo neste trabalho foi estimular a germinação dos esporos (presentes nas cascas do abacaxi) através de ativação com calor para posteriormente eliminar a fase anamórfica germinada por processamento térmico (80°C/ 30min).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

Foram utilizados neste estudo 110 abacaxis da variedade *Smooth cayenne* adquiridos no CEASA de Campinas.

3.1.1 EXTRAÇÃO DO SUCO

Os abacaxis submetidos a tratamento, eram enxaguados com água corrente e logo processados da mesma maneira que as amostras de abacaxi controle, embora separados. Os abacaxis foram cortados manual e mecanicamente (facas, ginaca), triturados (multiprocessador), extraído (finisher) e recolhido o suco com teor de polpa aprox. 50%, em frascos estéreis de 1 litro. Foram recolhidos 2 litros de amostra para cada tratamento. O suco (pH 3.5; °Brix 15) foi armazenado sob refrigeração (10-13°C) e analisado no mesmo dia. Nenhuma amostra, nem tratada nem controle, foi pasteurizada durante o processo.

3.2 MÉTODO

3.2.1 PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO DO TRATAMENTO DE GERMINAÇÃO

Foi escolhida a metodologia de superfície de resposta para analisar os resultados, descrita por ARTEAGA *et al* (1994). A metodologia trabalha com variáveis independentes, e com variáveis dependentes que seriam a resposta da interação das independentes. Nós trabalhamos com 2 variáveis: Concentração de sal (NaCl) e tempo, a variável dependente era porcentagem de germinação avaliada por contagens microbiológicas de fungos termorresistentes. Utilizando esta metodologia delineou-se o trabalho.(Tabela 1).

Concentração de NaCl = 3- 5%

Tempo = 2-3 horas

Numero de Experimentos = $2^n + 2n + 3$

n= Número de variáveis independentes

Variável Dependente: Porcentagem de Germinação

Os valores (± 1 , $\pm \alpha$ e 0) são valores codificados das variáveis independentes, (sendo $\alpha = 1,414$, e "0" o ponto central). Para obter os dados de concentração de NaCl dos pontos extremos ($-\alpha$, $+\alpha$) se realizam os seguintes cálculos:

Equação:

$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
X_1	3	4	5	X_2

$$\frac{0 + 1,414}{4 - X_1} = \frac{0 + 1}{4 - 3}$$
$$4 - X_1 = 1,414$$
$$X_1 = 2,6$$

$$\frac{1,414 - 0}{X_2 - 4} = \frac{1 - 0}{5 - 4}$$
$$X_2 - 4 = 1,414$$
$$X_2 = 5,4$$

Da mesma forma, só mudando os valores da equação 1, obter-se-ão os valores extremos do tempo ($-\alpha$, $+\alpha$) dos experimentos. Os valores médios (-1 $+1$) de tempo e concentração de sal NaCl obtém-se das médias dos valores propostos para o experimento. Os níveis codificados e não codificados que representam os valores maiores e menores das variáveis independentes são apresentados na tabela 1

Tabela 1- Níveis reais e codificados das variáveis independentes no delineamento experimental

Níveis Codificados	Níveis reais (Não codificados)	
	Concentração de NaCl (%)	tempo (horas)
$-\alpha$	2,60	1,8
-1	3	2
0	4	2,5
+1	5	3
$+\alpha$	5,40	3,2

Com estes valores apresentados na tabela 1 dos níveis foi feito o delineamento dos 11 experimentos apresentados na tabela 2.

Tabela 2- Níveis codificados e não codificados dos 11 experimentos

Parâmetros codificados		Parâmetros não codificados	
Concentração de NaCl (%)	Tempo (horas)	Concentração de NaCl (%)	Tempo (horas)
-	-	3	2
+	-	5	2
-	+	3	333
+	+	5	33
- α	0	2,60	2,5
+ α	0	5,40	2,5
0	- α	4	1,8
0	+ α	4	3,2
0	0	4	2,5
0	0	4	2,5
0	0	4	2,5

Os dados da tabela 1 apresentam os valores reais dos 11 experimentos que foram delineados experimentalmente pelo modelo de superfície de resposta.

3.2.2 METODOLOGIA DE ATIVAÇÃO E GERMINAÇÃO DE ESPOROS TERMORRESISTENTES PRESENTES NAS CASCAS DE ABACAXI

Foram realizados 11 tratamentos, para cada um utilizou-se 10 abacaxis (cinco da amostra com tratamento e cinco de controle, sem tratamento). O tratamento de germinação dos esporos presentes nas cascas de abacaxis inteiros, foi realizado antes do corte da fruta para ser processada. As frutas foram lavadas por imersão em solução de água clorada (100 ppm de

Hipoclorito de sódio), esfregadas com uma bucha para ajudar na remoção de sujeiras, submetida a um choque térmico 95-97°C/30s (ativação). Posteriormente foram submergidas em tanque com água (germinação) com concentrações de NaCl diferentes para cada tratamento (2-5%) sendo a temperatura da solução(água-sal) sempre constante (40°C).O tempo (2-3 horas) em que os abacaxis permaneciam na solução também variou de tratamento para tratamento O delineamento estatístico que foi utilizado para desenvolver e analisar este experimento foi o de superfície de resposta.

3.2.2.1 CONDIÇÕES DE EXPERIMENTO

Tempo e temperatura de Ativação: Vapor (90-95°C, 30 s.)

Temperatura de germinação: 40°C, fixa.

Concentração de NaCl: 2-5%, variável independente.

Tempo de Germinação: 2-3 horas, variável independente.

Resposta: Porcentagem de Germinação Variável dependente

3.2.2.2 EQUIPAMENTO.

Termômetro digital.

Tanque para germinação.

Autoclave. (improvisada para a ativação).

Bandejas de alumínio.

3.2.3 METODOLOGIA DE ANÁLISE. CONTAGEM DE FUNGOS TERMORRESISTENTES:

Esta metodologia foi descrita por (HOGKING & PITT, 1984).

Após o processo a amostra não pasteurizada foi acondicionada em garrafas estéreis. Foram tomadas para cada análise 2 litros de amostra do suco extraído do abacaxi, submetido a tratamento de germinação com NaCl e 2 litros do suco extraído sem tratamento (amostra controle). Nos 11 tratamentos procedeu-se da mesma forma.

As análises sempre realizavam-se no mesmo dia da extração do suco. Foram distribuídos 100 ml de amostra em 4 garrafas esterilizadas de vidro, 25 ml em cada uma, tudo sendo medido com uma proveta também esterilizada, realizando a análise em fluxo laminar para evitar qualquer contaminação do meio.

As garrafas foram tampadas e colocadas em banho a 80°C/ 30 minutos (ativação) e o tempo contado após a temperatura atingida. Usou-se uma garrafa contendo amostra com o auxílio de um termômetro calibrado.

Após os 30 minutos foram resfriadas rapidamente e logo se misturou com 100 ml do meio PDA contendo 1,5% de ágar a mais que os meios normais, e logo distribui-se em 8 placas de 150mm, especiais para realização da contagem de termorresistentes. Após o resfriamento guardou-se as placas em sacos plásticos, arejados e fechados, e as incubou a 30°C por 6 dias, para depois serem realizadas as contagens.

Feito em duplicatas, este procedimento foi utilizado para os 11 tratamentos.. Para realização de uma análise confiável é necessário um suco de °Brix menor que 35 e pH acima de 3,3.

Os fungos muitas vezes começaram a crescer no terceiro dia após incubação; como critério pessoal as contagens foram feitas após 6 dias, para evitar falsas contagens. As amostras foram deixadas na incubadora um mês a 30°C como indica a metodologia, a contagem não mudou e só foi detectado crescimento das colônias.

A metodologia prevê contaminações de fungos de outras espécies não termorresistentes que podiam dar resultados falsos. Estes fungos têm características bem definidas e simples de distinguir. São de cor verde intenso, crescem nas bordas das placas, e no segundo dia de incubação já estão bem desenvolvidos. Durante as análises da contagem de fungos termorresistentes só houve uma ocasião que foi observado crescimento de fungos nas paredes das placas, foram feitos ensaios de identificação e efetivamente não apresentavam nenhuma característica de ascomícetos.

3.2.3.1 CÁLCULO DA PORCENTAGEM DE GERMINAÇÃO DOS ESPOROS TERMORRESISTENTES NO TRATAMENTO ALTERNATIVO.

A etapa da ativação (80°C/30 minutos) descrita na metodologia de contagem de esporos *in vitro* (HOGKING & PITT, 1984), é muito importante pois além da função de ativar esporos termorresistentes, destruirá qualquer forma vegetativa do esporo germinado pelo tratamento de germinação *in vivo*, de modo que após feita a análise de contagem, só germinarão *in vitro* os esporos termorresistentes dos fungos que não puderam germinar no tratamento descrito na tecnologia alternativa. Posterior a análise, foram comparadas as contagens de esporos das amostras com as do controle, calculando-se em base estes dados a porcentagem de germinação de cada tratamento.

12ufc/100ml de suco = Contagem de esporos termorresistentes do controle.

4 ufc/100ml de suco = Contagem de esporos termorresistentes da amostra

Estas contagens correspondem á germinação, *in vitro*. Se obteve a porcentagem de germinação *in vitro* fazendo um calculo de regra de três considerando que 12 ufc correspondem a 100% de porcentagem germinação

$$\begin{array}{r} 12\text{ufc}/100\text{ml de suco} \\ 4\text{ufc}/100\text{ml de suco} \end{array} \begin{array}{l} \diagup \\ \diagdown \end{array} \begin{array}{l} 100\% \text{ (Porcentagem de germinação)} \\ X \end{array}$$

$$X = 33,3\%$$

Os 33,3% representam a porcentagem de esporos germinados na fase *in vitro* o restante que não germinou (66,7%), representam os esporos que germinaram na fase *in vivo* do tratamento proposto e que foram eliminados na etapa de ativação (80°C/30min).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O suco extraído dos subprodutos (casca, miolo extremidades) dos abacaxis tratados e controle foram analisados pela metodologia de contagem de esporos termorresistentes descrita por HODKING & PITT, 1984). É muito importante citar que os esporos termorresistentes sempre apareceram nas contagens dos 11 tratamentos, tanto nas amostras controle como nas amostras que foram submetidas a germinação, o que significa que as cascas de abacaxi possuem condições favoráveis para o desenvolvimento destes. Este comentário concorda com

o trabalho de SPLITTSTOESSER & CHUREY, 1992 que reporta a contagem de esporos termorresistentes em 13 frutas diferentes, onde o abacaxi foi o que apresentou maior incidência.

Os resultados das contagens e porcentagem de germinação dos onze (11) experimentos são reportados na TABELA 3.

Tabela 3- Médias das contagens de esporos termorresistentes de amostras tratamento e controle. influência das variáveis independentes NaCl, tempo, na porcentagem de germinação (variável dependente).

Parâmetros		Contagem de esporos		Germinação
[NaCl]	Tempo (horas)	*CTC (ufc/100ml)	**CTA (ufc/100ml)	% de Germinação (ufc/100ml suco)
3	2	8,5	4,5	47,1
5	2	4,5	0,5	88,9
3	3	8,5	2	76,5
5	3	4	4	0
2,60	2,5	11	10	9,1
5,40	2,5	31	3,5	88,9
4	1,8	5	1,5	70
4	3,2	12	12	0
4	2,5	12	4	66,7
4	2,5	13	6	53,8
4	2,5	3,5	1,5	57,1

* Contagem de termorresistentes (amostras controle), ** contagem de amostras com tratamento.

A incidência das variáveis independentes (tempo e concentração de NaCl em relação à porcentagem de germinação dos 11 experimentos foi avaliada estatisticamente e obtiveram-se os seguintes resultados apresentados na TABELA 4.

Tabela 4- Interações das variáveis independentes (tempo e concentração de NaCl) e os efeitos sobre a porcentagem de germinação de esporos.

Variáveis	Principais Efeitos
Principais interações	50,7364
(1)Concentração de NaCl. A (L)	9,7693
(2)Tempo B (L)	-19,8119
1L x 2L	-29,5750

A tabela 4 apresenta as variáveis independentes e os principais efeitos. Os efeitos significativos de estudo, destacados com vermelho, correspondem a efeitos de primeira ordem (lineares). O valor do efeito linear de tempo com sinal negativo (-) é significativo, o que significa, que com o aumento do tempo nos tratamentos, a porcentagem de germinação diminui. Os valores lineares de interação da concentração de NaCl vs tempo são significativos nas condições estudadas.

A concentração de NaCl analisado como efeito isolado, corresponde a um valor não significativo, no entanto representa um valor linear com sinal positivo (+) que poderia sugerir uma tendência, com o aumento da concentração da sal, maior a porcentagem de germinação se obteria. Este argumento sugerido, pode ser reforçado pelos valores significativos que se obtém quando interage com o tempo, estes resultados são descritos também nas figuras (1,2, 3).

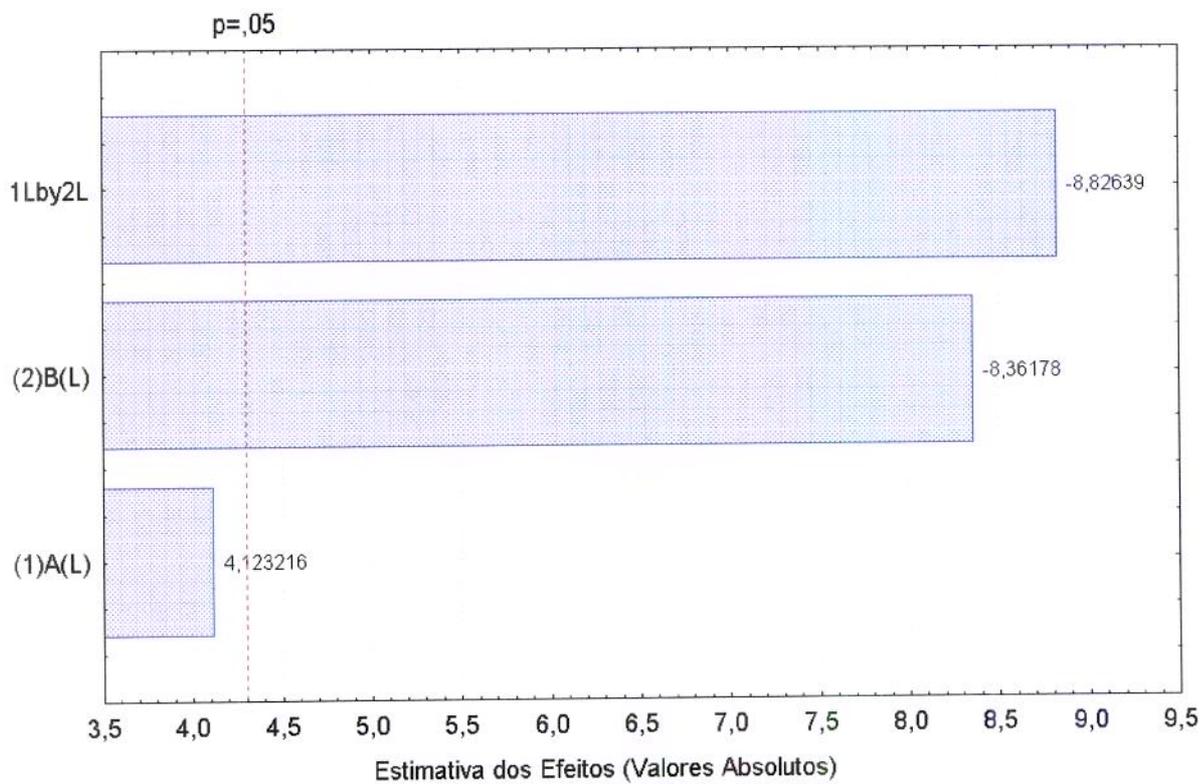


Figura 1- Pareto

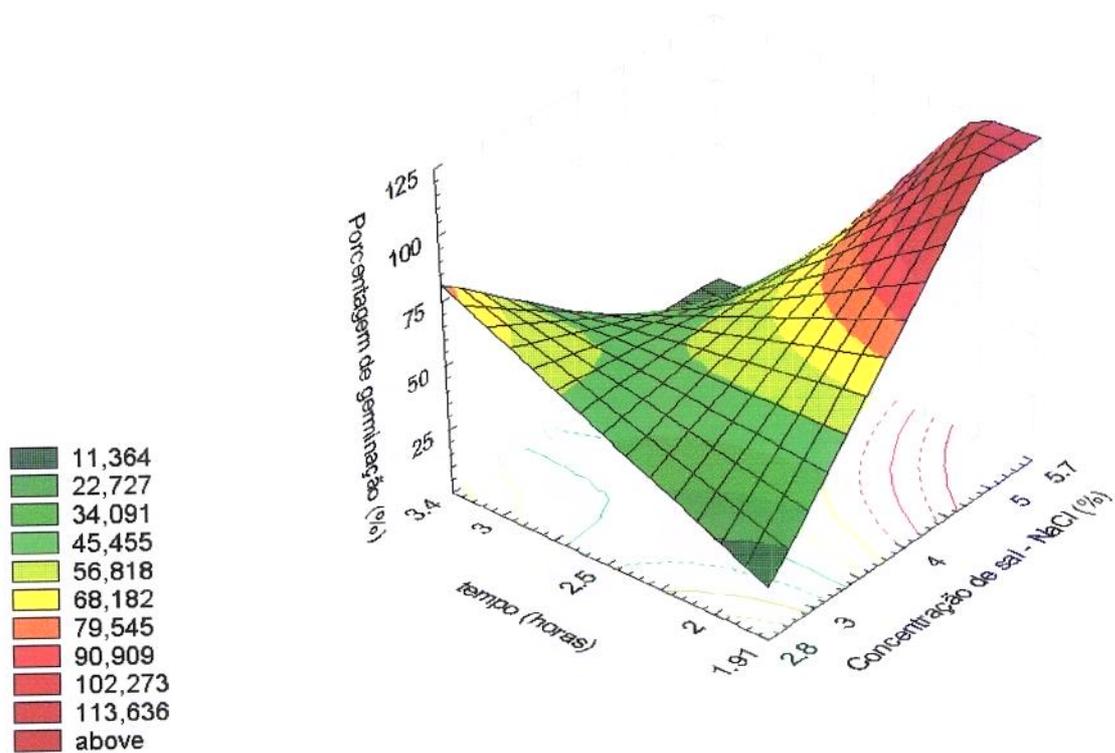


Figura 2- Superfície de resposta da porcentagem de germinação em função da concentração de NaCl e do tempo.

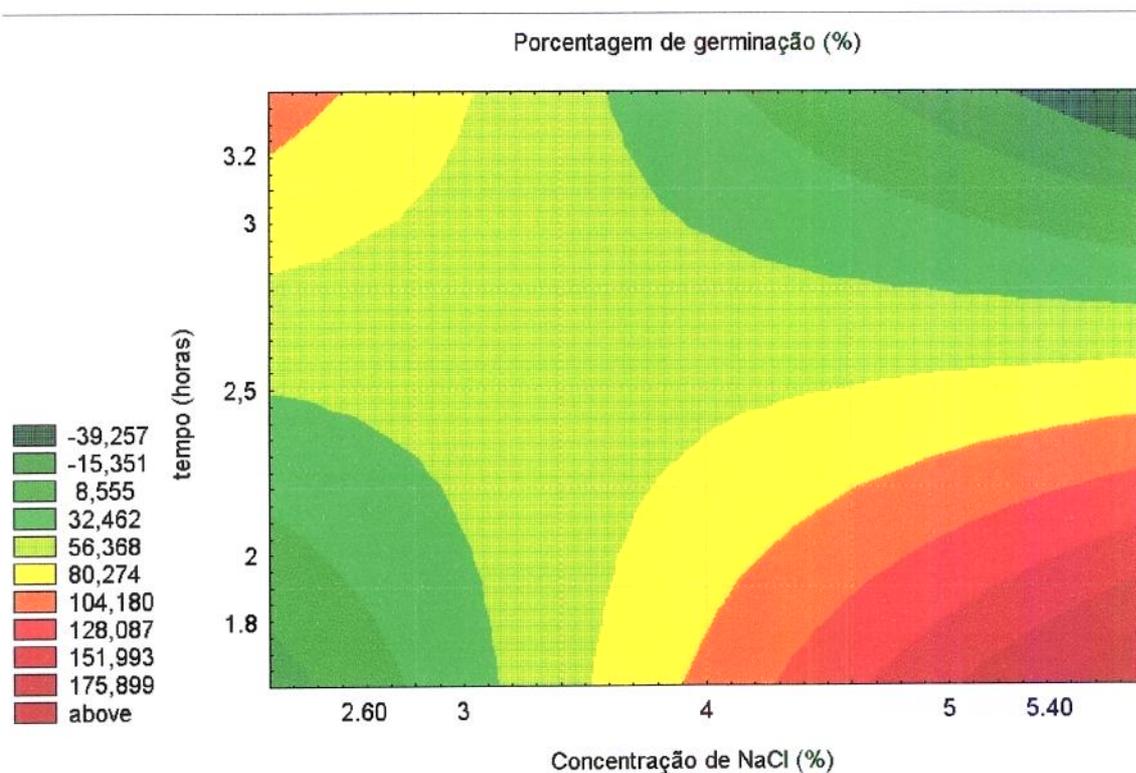


Figura 3: Superfície de contorno da porcentagem de germinação em função da concentração de NaCl e do tempo.

Os principais efeitos e coeficientes de correlação do experimento foram calculados pelo *software* estatística e os resultados são apresentados na tabela 5.

Tabela 5- Principais efeitos e coeficientes de correlação

Principais efeitos	Coefficiente de correlação
Efeitos significativos	50,7364
(1) Concentração de NaCl A (L)	19,5386
(2) tempo B (L)	-39,6237
1L x 2L	-59,1500

Os valores ressaltados com vermelho são os efeitos mais significativos e descrevem a equação modelo deste experimento

$$Y = 50,7 + 19,5 [\text{CINa}] - 39,6 (t) - 59,2 [\text{CINa}] \times t$$

A equação descrita só representará um modelo preditivo após a análise de variância (ANOVA). A análise da variância, apresentada na tabela 6, foi calculada no software estatística, e descreve alguns valores dos parâmetros que são importantes para determinar se o delineamento experimental corresponde a um modelo preditivo ou não.

Tabela 6 - Principais fatores e seus resíduos. Análise de variância (ANOVA).

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	F (calculado)	F (tabelado)	R ²
Regressão	7581,96	3	2527,32	4,96	4,35	0,66
Resíduos	3565,71	7	509,39			
Falta de Ajuste	3655,53	5	731,11	16,27	19,30	
Erro Puro	89,92	2	44,91			
Total	11147,67	10	114,77			

A TABELA 6 mostra os principais valores de resíduos para fazer a análise de variância (ANOVA). Os valores de F calculado e F tabelado são importantes para determinar se o delineamento experimental corresponde a um modelo preditivo. Para que equação de um delineamento seja preditiva o valor de F calculado deve ser três vezes maior que o F tabelado BARROS (1994).

Através da análise de variância (ANOVA), conclui-se que a equação modelo descrita na tabela 2 não é preditiva, a falta de ajuste do experimento é muito grande e o R² muito baixo, no entanto o erro puro é baixo e sugere que a falta de ajuste do experimento pode ter ocorrido por outros fatores que participam no fenômeno de germinação dos fungos e que não foram incluídos como variáveis independentes neste estudo. Outra razão para a falta de ajuste,

pode ter sido a baixa contagem de esporos termorresistentes. Contagens maiores ampliariam a frequência, diminuiriam o erro e obteria-se um valor de F calculado maior, embora isto do ponto de vista prático não respondesse ao objetivo deste trabalho, que foi de reduzir ou eliminar as contagens de esporos termorresistentes do suco.

Os resultados apresentados na tabela 4, sugerem que a concentração de sal como parâmetro isolado não teve um efeito significativo na germinação dos esporos, embora a interação deste com o tempo aumento a porcentagem de germinação (vide tabela 5 e fig 1).

Existem argumentos na bibliografia que fortalecem que o sal pode agir como um catalisador da germinação de esporos em concentrações menores a 6%.

SPLITTSTOESSER & CHUREY, 1992, reportaram que o NaCl, embora diminuía a A_w de água, não impede a germinação de esporos de *Neosartoria pseudofisheri*. Quando usado em concentrações menores a 6% aumenta a porcentagem de germinação em 2%. Eles obtiveram *in vitro* porcentagens de germinação do esporos termorresistentes de 97% sem NaCl, e 99,6% com o uso da sal. Concentrações maiores a 6% de sal inibiam parcial ou totalmente a germinação de esporos pela diminuição da atividade de água e devido a outros fatores que eles desconheciam.

Esses fatores parecem estar ligados à composição e funcionalidade das cadeias longas de lipídeos presentes na membrana dos esporos termorresistentes. A seguinte seqüência de conceitos são nossos principais argumentos para sustentar a hipótese que o sal catalisa a germinação embora o efeito deste não tenha sido significativo no delineamento estatístico.:

A sal é um pró-oxidante, que além de diminuir a A_w em uma solução, reduz a solubilidade de oxigênio nela, que certamente favorece o contato entre o oxigênio e o substrato (ácidos graxos) PARDI *et al*, 1993.

O conteúdo de lipídeos na membrana dos esporos termorresistentes é duas vezes maior que o conteúdo presente nos esporos de fungos normais e estes estão envolvidos em sistemas de transporte através da membrana BANNER, 1979.

A oxidação de ácidos graxos produz NADH e FADH que transferem elétrons para O_2 , que é necessário para a formação de ATP. O ATP é a principal fonte de energia de organismos aeróbios (fungos são organismos aeróbios) (STRIER, 1992),

A respiração é um processo gerador de ATP, no qual um composto inorgânico como o O_2 serve como o receptor final de elétrons. O doador de elétrons pode ser um composto orgânico ou inorgânico STRIER, 1992.

A alta atividade de processos produtores de energia, que são necessários para a síntese de proteínas e subsequente germinação, se caracteriza entre outras coisas pelas grandes velocidades de respiração (Gotlieb, 1965 citado por TOURNAS, 1994)

Yates, 1973 citado por TOURNAS, (1994) utilizou íons de acetatos (0,02M), que segundo ele foram essenciais na respiração e posterior germinação de ascospóros de *Bissoclamys nivea*. Neste trabalho o autor destaca a importância do choque térmico (ativação) antes que o acetato possa entrar no esporo e reporta a possibilidade do íon acetato influir no início da oxidação dos ácidos graxos.

Sussman, 1976 citado por TAO, *et al.*, 1997 sugere que o início da germinação de esporos, fungos e bactérias pelo calor (ativação), é a desnaturação das proteínas com mudanças na membrana lipídica do esporo e subsequente germinação.

Segundo os resultados apresentados na tabela (4-5) o valor do efeito linear de tempo com sinal (-) é significativo, o que quer dizer que, com o aumento do tempo nos tratamentos, a porcentagem de germinação diminui.

Os tratamentos (2 e 4) apresentaram porcentagens de germinação de (88,9% e 0%) respectivamente. No experimento 2, os abacaxis ficaram 1 hora a menos em germinação que no experimento 4. Yates, 1973, citado por TOURNAS, 1994, reportou que pode ocorrer uma reversão do estado de germinação ao estado de dormência em condições desfavoráveis, após o esporo ter germinado, neste caso poderia ter ocorrido uma reversão total dos esporos do experimento 4 pelo tempo que ficou submetido a uma concentração alta de sal, o mesmo fenômeno de reversão pode ter ocorrido no tratamento.

Foi escolhida a condição de ativação (95-97°C/30s) empregado na germinação *in vivo* de esporos de fungos, partindo do critério do WILKINSON *et al.*, (1973) que reporta a ativação de esporos de *Bacillus cereus* em 15 segundos acima dos 80°C. Não existem dados na literatura que reportem as mesmas condições de ativação em fungos, King *et al.*, 1969 citado por TOURNAS, 1994 reporta condições de ativação favoráveis para germinação de

Bissochlamys fulva 80°C/4 min, e dentre as bibliografias encontradas estas são as condições mais próximas as utilizadas em nosso experimento.

5 CONCLUSÃO

Concluimos ao relacionar 73% dos tratamentos com os seus controles, que a metodologia alternativa proposta, reduziu as contagens de esporos termorresistentes. Os melhores tratamentos de germinação foram 2 horas/5% de NaCl e 2,5 horas/ 5,4% de NaCl onde se reportaram 88,9% de germinação. O tempo e um efeito significativo em relação a porcentagem de germinação. Na interação dos efeitos tempo/concentração, a concentração de NaCl é mais significativa que o efeito tempo isolado. O efeito isolado da concentração de NaCl não foi significativa segundo o modelo estatístico.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAGÃO, G.M., Identificação e determinação da resistência térmica de fungos filamentosos termorresistentes isolados de polpa de morango. Campinas, 1989, p.139. Tese: (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas.
- ARTEAGA, G.E., LI- CHAN, E; VASQUEZ-ARTEAGA, M.C. *et al.* Systematic experimental designs for product formula optimization Trends in Food Science and Technology Cambridge, v.5, n.8, p. 243-254, 1994.
- BANNER, M.J., MATTICK, L.R., SPLITTSTOESSER, D.F., Chemical composition of the ascospores of *bissochlamys fulva*. Journal of Food Science. v.44, n.2, p. 545-548, 1979.
- HOGKING, A.D., PITT, I.J., Food spoilage fungi.II.Heat resistant fungi. Csiro Food Res. v.44, n.4, p. 73-82. 1984.
- JESENKÁ, Z., PIECKOVÁ, E., BERNÁT, D., Heat- resistant fungi in the soil International Journal of Food Microbiology, n. 16, p. 209-214, 1992.
- KOTZEKIDOU, P., Heat resistance of *bissochlamys nivea*, *bissochlamys fulva* and *neosartorya fischeri* isolated from canned tomato paste. Journal of Food Science v.62, n.2, p. 410-412, 1997.

- MAGGI, A., GOLA, S., SPOTTI, E., RAVERE, P., MUTTI, P., Trattamenti ad alta pressione di ascospore di muffe termoresistenti di patulina in nettare di albicoca e in acqua. Industrie Conserve. v.69, n.1, p.26-29, 1994.
- NIELSEN, P.V., BEUCHAT, L.R., FRISVAD J.C. Growth of and fumitremorgin production by *Neosartorya fischeri* as affected by temperature, light and water activity. Applied and Environmental Microbiology. v.54, n.6, p. 1504-1510, 1988.
- PARDI, M.C., DOS SANTOS, J.F., DE SOUZA, E.R., PARDI, H.S. Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne. 9ed. Editorial UFG, 1993. Vol I, cap. 2, p. 117-118.
- PARDI, M.C., DOS SANTOS, J.F., DE SOUZA, E.R., PARDI, H.S. Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne. 9ed. Editorial UFG, 1993. Vol II, cap. 7, p. 720-725.
- PIECKOVÁ, E., JESENKÁ, Z., Toxinogenicity of heat-resistant fungi detected by a bio-assay International Journal of Food Microbiology n. 36, p. 227-229, 1997.
- SCOTT, N.V., BERNARD. D.T., Heat Resistance of *Talaromyces flavus* and *Neosartorya fischeri* Isolated from Commercial Fruit Juices., Journal of Food Protection, v. 50, n. 1, p. 18-20, 1987.
- SPLITTSTOESSER, D.F., KUSS, F.R., HARRISON, W., PREST, D.B. Incidence of heat-resistant molds in eastern orchards and vineyards. Applied Microbiology. v.21, n.2, p. 335-337, 1971.
- SPLITTSTOESSER, D.F., CHUREY, J.J. Activation and Germination of *Neosartorya* Ascospores In: Samson, R.A, Hocking A.D, Pitt J.I and King A.D. Modern Methods in Food Microbiology, Netherlands: Elsevier, 1992. cap 4, p.169-176.
- STRYER, L. Bioquímica; trad. de Campos, J.P; Macedo, F,L; Motta, A,P., 3ed. Stanford University 1992. p.329-352..
- TOURNAS, V., TRAXLER, R.W., Heat-resistant of a *Neosartorya fischeri* strain isolated from pineapple juice frozen concentrate. Journal of Food Protection v.57, n.9, p. 814-816, 1994.
- TOURNAS, VALERIE., Heat-Resistant fungi of importance to the food and beverage industry. Critical Reviews in Microbiology .v.20, n.4, p. 243-263, 1994.

UBOLDI EIROA, N.M., Microorganismos deteriorantes de sucos de frutas e medidas de controle. Bol. S.B.C.T.A , Campinas, v. 23, p. 141-160, 1984.

WILKINSON, G., DAVIES, F.L., Germination of Spores of bacillus cereus in Milk and Milk Dialysates: Effect of Heat treatment, J. Appl. Bact. n. 36, p. 485-496, 1973.

CAPÍTULO 4 –

ESTUDO DOS NÍVEIS RESIDUAIS DE BENOMIL E VAMIDOTION EM SUCOS PROCESSADOS DE SUB-PRODUTOS DE ABACAXI

(*Smooth cayenne*).

1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar os níveis de resíduos de vamidotion e benomil nos sucos obtidos nas diferentes etapas de processamento dos subprodutos do abacaxi (*Smooth Cayenne*). Aplicaram-se vamidotion (Kilval 0,25%) e benomil (benlate 0,15%) no abacaxi cultivado no campo. Após colheita, dividiram-se as frutas em dois grupos: não lavados e lavados (100 ppm de hipoclorito). Dos abacaxis não lavados, extraiu-se o suco dos subprodutos e descartou-se a polpa e o bagaço. Dos lavados separaram-se a polpa e os subprodutos; em seguida extraiu-se apenas o suco da polpa e os sucos obtidos dos subprodutos foram submetidos a branqueamento (95 °C/min) e pasteurização (91,5 °C/30 s). Foram analisados resíduos de vamidotion e benomil por cromatografia gasosa (Detector Termoiônico Específico) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (detector uv/visível), respectivamente. Não foram detectados benomil em nenhuma amostra dentro do limite de quantificação do método (0,1mg/kg). No entanto detectou-se apenas traços de vamidotion no suco oriundo das frutas não lavadas e 0,021 mg/kg no bagaço. De acordo com os resultados obtidos, todos os sucos (da polpa e sub-produtos) e bagaço podem ser utilizados para consumo humano ou ração animal, respectivamente, em relação a legislação brasileira de resíduos de pesticidas.

2 INTRODUÇÃO

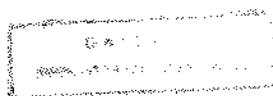
O abacaxi é uma das frutas mais apreciadas para consumo *in natura* em todo o mundo e o Brasil, indiscutivelmente o maior exportador desta fruta na América latina, com produção no ano de 1996 de 843.940 frutas em 40.760 hectare (CARVALHO *et al.*, 1998), está enquadrado como um dos maiores produtores do mundo. Porém, nos últimos anos, devido a praticidade e ao seu sabor, o suco de abacaxi vem sendo amplamente requisitado pelos consumidores. De acordo com o COMTRADE,(1993), o suco de abacaxi é o terceiro mais preferido mundialmente, com um consumo estimado em 200 mil toneladas anuais. Segundo SAVITICI, 1995, o consumo do suco de abacaxi só é superado pelos sucos da laranja e da

maçã. Além de ser o maior exportador de suco de fruta da América do Sul, o Brasil é um dos quatro maiores exportadores em todo o mundo.

O processamento dos alimentos, utilizado mundialmente, é empregado para aumentar a vida de prateleira, melhorar a qualidade, aumentar a disponibilidade e facilitar o aproveitamento dos alimentos por parte do consumidor, oferecendo comodidade e sobretudo segurança (ZEUTEN *et al.*, 1990; GAVA, 1978). Por estas razões, processar suco de frutas tem sido uma prática mundial, principalmente dos seus subprodutos, porque, além de aumentar o rendimento do suco as empresas são favorecidas economicamente. Nos últimos anos, o Brasil tem adotado a prática de processar os subprodutos do abacaxi (casca, extremidade e miolo) (SAVITICI, 1995). Os subprodutos de abacaxi representam de 35% a 40% da fruta. Segundo dados de rendimento em uma planta de processamento de suco de abacaxi, pode-se obter 85% de suco a partir dos subprodutos, e o restante (15%) é utilizado para outras finalidades, como por exemplo ração animal (TISSEAU, 1986).

A qualidade do suco de abacaxi está subordinada a vários fatores como sabor, textura, acidez e a sua composição química. Entretanto, devido a natureza desta fruta, a mesma é vulnerável, durante o seu cultivo no campo, ao ataque de insetos e ao aparecimento de fungos que deterioram e inviabilizam sua produção. Desta forma, é necessário combater estas adversidades através dos tratamentos culturais com o emprego de pesticidas. Entretanto se estes não forem administrados segundo as boas práticas agrícolas, pode comprometer a qualidade da fruta com níveis de resíduos acima do estabelecido pela legislação (OOGHE & DRESSELAERTS, 1995; AMEND, 1996).

Durante o cultivo do abacaxizeiro, a fruta está sujeita ao ataque da fusariose, também conhecida como gomose, causada pelo fungo *Fusarium moniliforme* Sheld. var. *subglutinans*. Estima-se em 30% as perdas de abacaxi no Brasil devido a ocorrência de fusariose. Esta doença manifesta-se em todos os estágios de desenvolvimento do fruto, da planta e das mudas do abacaxizeiro, causando a exsudação de uma substância gomosa na região infectada. Outro obstáculo no seu cultivo é a presença das pragas conhecidas como a cochonilha (*Dymicoccus brevipes*), ácaro vermelho ou ácaro plano (*Dolichotetranychus floridamus*), com ocorrência em todas as partes do mundo. Este ácaro é responsável em todo o mundo por perdas de até 16% do fruto. Para neutralizar a presença dos fungos e pragas, administram-se benomil (benlate) (figura 1) e vamidotion (kilval) (figura 2), respectivamente (MEDINA 1987).



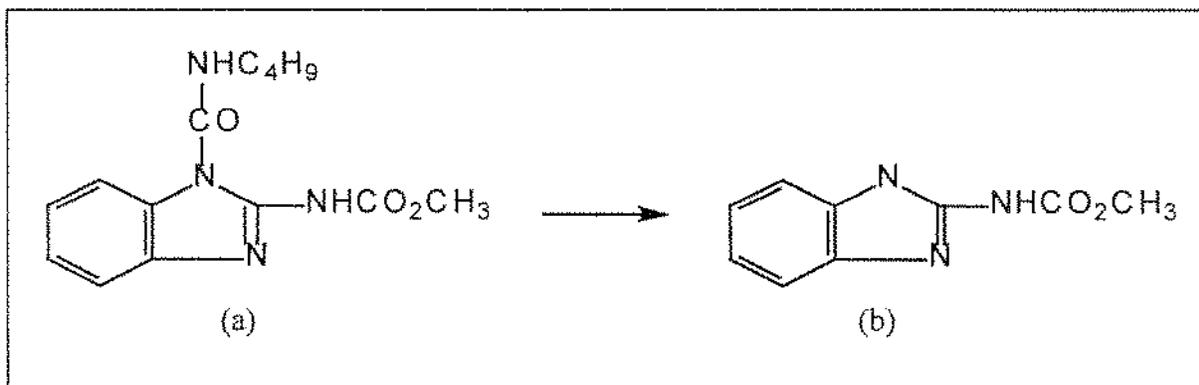


Figura 1. Estrutura molecular do benomil (a) e carbendazim (b).

O benomil é um fungicida sistêmico, pertencente ao grupo dos benzimidazoles, aplicado no solo e administrado para controlar diversos tipos de doenças de frutas. Está enquadrado na classe toxicológica IV, possui DL_{50} via oral para ratos de 10.000 mg/kg. O benomil degrada-se rapidamente a carbendazim (figura 1), seu principal produto de degradação, e este também é um fungicida sistêmico utilizado para combater um amplo espectro de doenças. Acredita-se que a fungitoxicidade do benomil seja devido a presença do carbendazim (CLEMENS & SISLER, 1969; GUAN et al., 1994; ITAK et al., 1993; LIU et al., 1990).

O vamidotion é um inseticida que foi descoberto nos laboratórios da Rhône-Poulenc em 1959. É empregado em várias culturas para combater vários tipos de insetos e pertence a classe toxicológica II, com DL_{50} oral para ratos de 10 mg/l. Aplicado no campo, o vamidotion é gradualmente oxidado a vamidotion sulfóxido e vamidotion sulfona (figura 2) (TSUMURA et al., 1993; DUBOSQ & DEDDE, 1972).

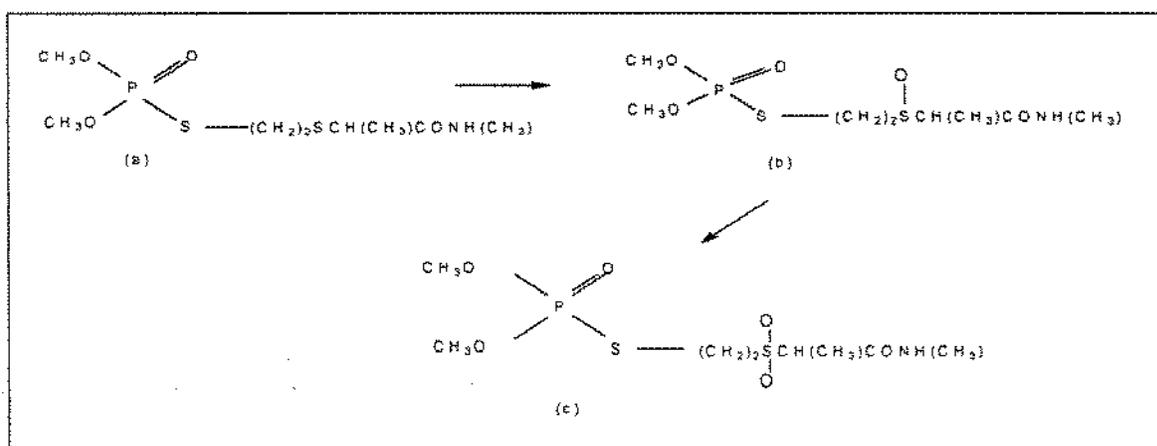


Figura 2. Estrutura molecular do vamidotion (a), vamidotion sulfóxido (b) e vamidotion sulfona (c).

A abordagem associativa entre resíduos de pesticidas e processamento de alimentos é muito escassa no Brasil. Com referência a fruta abacaxi, não se dispõe de dados que enfoquem esta relação.

Em função destes aspectos, o objetivo deste trabalho foi estudar os níveis de resíduos de vamidotion e benomil nas diversas etapas do processamento dos subprodutos do abacaxi.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 DEMARCAÇÃO NO CAMPO

Abacaxis de variedade havaiano (*Smooth cayenne*) foram plantados em Dezembro de 1996 e coletados em Março de 1998 na fazenda Nova Esperança município de Canápolis (Estado Minas Gerais). Cultivaram-se as frutas em uma área de 15 hectares (31.250 abacaxis/hectares), com espaçamentos de 1,0 m entre as linhas dupla, 0,60 m entre linhas da linha dupla e 0,40 m entre cada fruta na mesma fileira.

3.2 APLICAÇÃO DE AGROTÓXICOS

O benomil (benlate) foi aplicado 4 vezes (0,15%) no solo, formulado com 0,05% de espalhante adesivo, durante o ciclo de frutificação. As pulverizações foram realizadas com intervalo de quinze dias com pulverizador de barra tratorizada e adaptada com pistolas com bico tipo cônico para aplicação manual fruto a fruto.

O vamidotion (kilval 300) foi aplicado três vezes (0,20%), com pulverizador de barra tratorizado com bico tipo cônico para aplicação manual fruto a fruto, durante o ciclo vegetativo, em intervalo no mínimo de 60 dias após o plantio para controle da cochonilha (*Dysmicoccus brevipes*) e os ácaros.

Irigou-se o abacaxizeiro, durante o período da seca (maio a setembro) com uma lâmina de 84mm, com turno de rega de 10 dias

3.3 AMOSTRAGEM DOS ABACAXIS

De cada uma das três áreas reservadas para amostragem, colheram-se aleatoriamente 50 abacaxis com carência de 90 dias. Transportaram-se as amostras até a planta piloto, onde foram submetidas a processamento.

3.4 PROCESSAMENTO

Dividiram-se cada um dos três lotes de amostra em duas partes de 20 (não lavado) e 30 abacaxis, sendo estes últimos submetidos a lavagem com hipoclorito de sódio 100 ppm durante 2 minutos utilizando-se de uma bucha para eliminação das sujeiras. O processamento está ilustrado na figura 2.

Abacaxis não lavados:

Separaram-se a polpa e os subprodutos (casca, miolo, extremidades) dos abacaxis não lavados. Descartaram-se a polpa, trituraram-se os subprodutos e obteve-se o suco após extração no finisher (A1)

Abacaxis lavados com hipoclorito de sódio (100 ppm)

Separaram-se a polpa e os subprodutos dos abacaxis lavados. Em separado trituraram-se ambas as partes e extraíram-se seus respectivos sucos no finisher (A2 e A3). Parte do suco obtido dos subprodutos foram misturados com o bagaço e em seguida esta mistura foi submetida a choque térmico a vapor (95 °C/1 min) e posteriormente extraiu-se o suco no finisher (A4). Uma fração deste suco foi pasteurizada em pasteurizador tubular (91,5 °C/30s) (A5). O bagaço restante (A6) da extração, assim como todas as amostras de suco, foram acondicionadas em frascos de vidro e armazenadas em freezer (-20 °C) até a ocasião das análises.

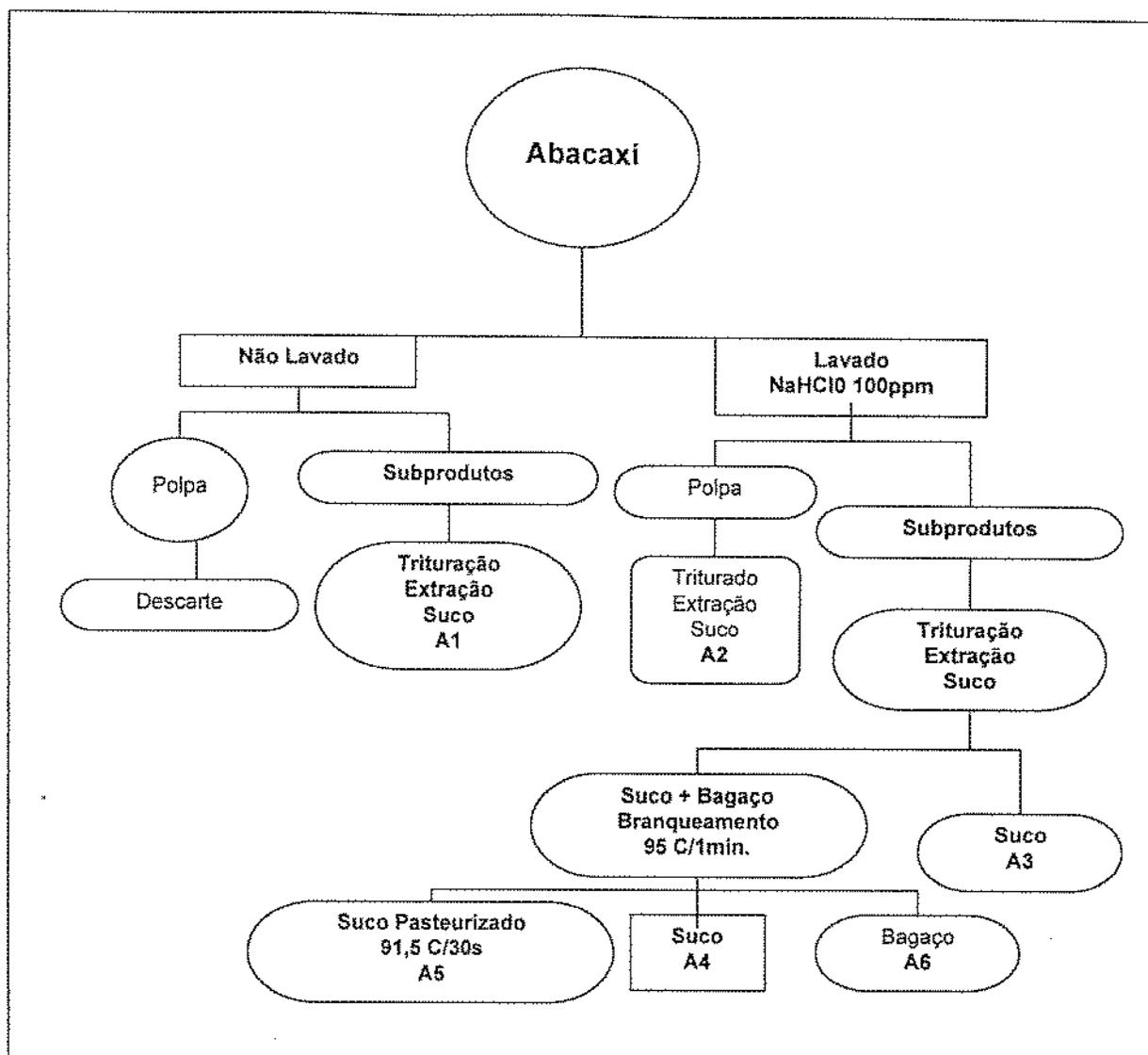


Figura 2. Ilustração do processamento dos subprodutos do abacaxi.

3.5 MÉTODOS DE ANÁLISES

3.5.1 MÉTODO DE LUKE *et al.* 1975.

Utilizou-se o método modificado de LUKE *et al.* (1975) para extração de vamidotion. Quantificaram-se os resíduos de vamidothion sulfona (Rhone Paulenc 98,8% de pureza) na amostra através da oxidação com KMnO_4 (DESMORAS, 1972). Para obtenção de vamidotion multiplicaram-se os resultados pelo fator estequiométrico de 0,90.

Pesou-se 10 g de amostra em erlenmeyer de 250 mL, adicionou-se 150 mL de acetona e extraiu-se durante 1 hora em agitador horizontal. Filtrou-se a vácuo com papel filtro Whatman n. 1, 125mm, adaptado em funil büchner acoplado em Kitassato. Lavou-se o erlenmeyer e o büchner com acetona e o filtrado foi transferido para um balão volumétrico de

200 mL, completando-se o volume. Retirou-se uma alíquota de 10ml e em seguida foi colocado em funil de separação de 500 ml. Adicionou-se 5 mL de solução de Permanganato de potássio 0,02% e 20 mL do tampão fosfato (0,1367g de $K_2H_2PO_4 \cdot 3H_2O$ e 0,9886 g de $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ 0,9886g em 100mL de água deionizada). Particionou-se 3 vezes com 80 mL de diclorometano, agitou-se vigorosamente, descartou-se a fase aquosa. Percolou-se as três fases inferiores constituídas por diclorometano em Sulfato de sódio anidro (previamente muflado a 400°C durante 8 horas e posteriormente mantido em dessecador). Recolheu-se em balão de 250 mL e evaporou-se em rotavapor a ± 40 °C. Retomou-se em 10 mL com acetona, transferiu-se para um tubo concentrador e evaporou-se até a secura em ar comprimido. Completou-se o volume para 1 mL de acetona e injetou-se em Cromatógrafo gasoso Varian modelo 3.400 equipado com Detector Termoiônico Específico (TSD). As condições cromatográficas foram: Fase móvel ($N_2 = 10$ psi), Ar (175 ml/min), H_2 (5 ml/min), Pérola (corrente 3.100), coluna megabore DB – 608. Temperatura de coluna (245 °C) injetor (250 °C) e detector (300 °C). Registrador com velocidade de papel de 30 cm/min, sensibilidade de 1 mV.

3.5.2 MÉTODO DE BARDALAYE & WHEELER, 1985

Para análise de benomil utilizou-se o método modificado de BARDALAYE & WHEELER, 1985. Como o benomil degrada para carbendazin, inicialmente quantificou-se este fungicida e multiplicou-se pelo fator 1,52 para obtenção do valor correspondente a concentração de benomil (WHITE & KILGORE, 1972). Preparou-se inicialmente 100 ml de 100 ppm de benomil (98,2%) (du Pont) diluído em acetona.

Pesou-se 5 g de amostra em erlenmeyer de 250 mL, adicionou-se a mistura metanol:tampão (0,1367g de $K_2H_2PO_4 \cdot 3H_2O$ e 0,9886g de $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$) (60:40) e extraiu-se em agitador horizontal durante 30 minutos. Filtrou-se em papel de filtro Whatman n. 41, 125mm, lavando-se o funil e o erlenmeyer com a mistura metanol:tampão (60:40). Transferiu-se o filtrado para funil de separação de 500 ml e particionou-se 2 vezes com 50 ml de clorofórmio. Descartou-se a fase aquosa e recolheu-se as fases de clorofórmio. Lavou-se o clorofórmio duas vezes com água e descartou-se esta. Filtrou-se em sulfato de sódio anidro toda a fase de clorofórmio e recolheu-se em balão de fundo chato de 500 ml. Evaporou-se em rotavapor (40°C) até a secura e retomou-se em 5 ml de metanol. Filtrou-se o extrato metanólico em filtro de membrana de 0,25 micrometro e Injetou-se em Cromatógrafo líquido de alta eficiência Varian modelo 9002 equipado com detector uv/v Varian modelo 9050 a 286

nm. Utilizou-se coluna RP-18 5 micrometros de 15 cm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, loop de 10 microlitro, RCDR/AUFS de 0,01, fluxo de 1,0 ml/min.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de recuperação do vamidotion para os níveis de fortificação 1,0 mg/kg e 0,1 mg/kg estiveram na faixa de 88% a 120%, enquanto benomil apresentou recuperações de 100% a 118% nos níveis de fortificações de 1,0 mg/kg e 0,1 mg/kg, respectivamente.

Não foram detectados resíduos de benomil em nenhuma amostra de suco e bagaço dentro do limite de quantificação do método (0,1 mg/kg). Não foi encontrado na literatura trabalhos focalizando resíduos de benomil em suco obtido do processamento dos subprodutos do abacaxi cultivado no campo sob tratamento em pré-colheita.

Porém tratamentos em pós-colheita com altas concentrações por imersão (0,5g/l – 2,99g/l de benomil) aplicado em citrus, maçã e banana, apresentaram, com zero dia de armazenamento, resultados de nd (não detectado), 0,01ppm e menor que 0,03 ppm, respectivamente. O fato de se ter encontrado este teor deve-se as metodologias empregadas que permitiram quantificar estes níveis na segunda casa decimal, o que não ocorreu no presente trabalho, cujo limite de quantificação não passou da primeira casa decimal. Outra questão relevante, que pode explicar a não quantificação de benomil, são os distintos tratamentos aplicados (pré-colheita e pós-colheita): enquanto no primeiro os pesticidas podem no campo sofrer degradação ou remoção por ação da chuva, luz solar, metabolismo da planta, calor, no segundo a fruta é submetida a imersão em altas concentrações e não sofrem as mesmas intempéries do tempo e transformações advindas do metabolismo celular, que favorecem a degradação dos pesticidas (BEM-YEHOSHUA et al., 1981; CANO et al., 1987; COX & PINEGAR, 1976)

A legislação brasileira de resíduos de pesticidas estabelece para o benomil, no abacaxi, limite máximo de resíduo de 2,0 ppm. Este nível é cerca de 20 vezes maior que o limite de quantificação do método do presente trabalho.

Os resultados das análises de resíduos de vamidotion encontra-se na tabela 1. Segundo TSUMURA, 1993, o vamidotion, após aplicação no campo, degrada-se nos metabolitos vamidotion sulfóxido e vamidotion sulfona. Como quantificou-se apenas o vamidotion sulfona, foi necessário, para obtenção deste pesticida, utilizar uma solução de permanganato

de potássio para promover a oxidação total do vamidotion. Com a adição de tampão no extrato, a extração do vamidotion nas amostras foram satisfatórias.

Na tabela 1 verifica-se que o suco obtido do abacaxi não lavado apresentou traços (pico abaixo do limite de quantificação do método) do vamidotion. Provavelmente a casca atuou como proteção à penetração deste pesticida na polpa. Alguns trabalhos, como de SCALON et al.,1996, e OLIVEIRA et al. 1997, relatam este comportamento em mangas tratadas por imersão em pós-colheita.

TABELA 1. NÍVEIS DE RESÍDUOS DE VAMIDOTION NOS SUCOS OBTIDOS DOS SUBPRODUTOS DO ABACAXI NAS DIVERSAS ETAPAS DE PROCESSAMENTO E NO BAGAÇO. MÉDIA DE TRÊS DETERMINAÇÕES COM DESVIO PADRÃO(DS).

ETAPAS DO PROCESSAMENTO		CONCENTRAÇÃO RESIDUAL
(1 –6)		(mg/kg) ± DS
Sem Lavagem		
1-Subprodutos	(A1)	Traços
Com Lavagem		
2-Polpa	(A2)	Nd
3-Subprodutos	(A3)	Nd
4-Subprodutos Branqueamento	(A4)	Nd
5-Subprodutos Pasteurizado	(A5)	Nd
6-Bagaço dos subprodutos	(A6)	0,021 ± 0,003

Nd – não detectado (abaixo o limite de quantificação do método 0,005 mg/kg)

Não foram detectados resíduos de vamidotion nos sucos extraídos nas diversas etapas do processamento dos subprodutos do abacaxi, conforme tabela 1. Provavelmente as quantidades de vamidotion estavam muito diluídas e por isto os valores mantiveram-se abaixo do limite de quantificação do método. Por outro lado encontrou-se resíduos no bagaço, provavelmente porque as ceras epicuticulares, presentes nas cascas, mantiveram o vamidotion ligado quimicamente, impedindo a sua solubilidade com a água no momento da extração do suco (RIEDERER & SCHREIBER, 1995).

Os níveis encontrados no bagaço estão abaixo do limite máximo de resíduos (0,1 mg/kg) estabelecido pela legislação brasileira de resíduos de pesticidas (Brasil, 1994).

Em virtude de não ter sido encontrado resíduos nos sucos nas diversas etapas do processamento, não foi possível avaliar a influencia deste sobre a diminuição dos resíduos de benomil e vamidotion.

5 CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos neste trabalho, conclui-se que referente a legislação brasileira de resíduos de pesticidas, todas as amostras de suco e o bagaço estão próprias para consumo humano e ração animal, respectivamente.

A casca presente no bagaço atuou como um sistema de proteção impedindo a difusão do vamidotion para a polpa do abacaxi.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMEND, P., Avoiding the risk of residues in fruit preparations (Particularly in Baby Foods). Fruit Processing, v. 1, p. 12-16, 1996.
- BARDALAYE, P.C., WHEELER, W.B. Simplified method for the clean-up and reversed-phase high performance liquid chromatographic determination of benomyl in mangoes. Journal Chromatographic, Amsterdam, v. 330, p. 403-407, 1985.
- BEM-YEHOSHUA, S., APELBAUM, A.; COHEN, E. Decay Control and Fungicide Residues in citrus Fruits Seal-packed in a High-density Polyethylene Film Pesticide Science, v. 12, p. 485-490, 1981.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Legislação Brasileira de Resíduos de Pesticidas. 1994.
- CANO, P.; DE LA PLAZA, J.L.; MUNOZ-DELGADO, L. J. Agric. Food Chem. v. 35, n. 1, p. 144-147, 1987.
- CARVALHO, L.M.J., SILVA, C.A.B., PIERUCCI, A.P.T., Clarification of Pineapple Juice (Ananas comosusu L. Merrill) by Ultrafiltration and Microfiltration: Physicochemical Evaluation of Clarified Juices, soft Drink Formulation, and Sensorial Evaluation J. Agric. Food Chem v. 46, n. 6, p. 2185-2189, 1998.

- CLEMENS, G.P.; SISLER, H.D. Formation of a fungitoxic derivative from benlate. *Phytopathology*, St. Paul, v. 59, n. 5, p.705-706, 1969.
- COMTRADE- Base de dados das Nações Unidas- 1993.
- COX, J.; PINEGAR, J.A. Benomyl Residues in Bananas *Pesticide Science*. 7, 193-200, 1976.
- DESMORAS, J., LAURENT, M., BUYS-M., Vamidothion : Thin-layer and liquid chromatography and analyses of pesticides of international importance In: SHERMA, J., ZWEIG, G. eds, *Analytical methods for pesticides and plant growth regulators* New York, Academic Press, p. 479-494, 1973.
- SHERMA, J., ZWEIG, G., eds, *Analytical methods for pesticides and plant growth regulators* New York, Academic Press, 1973, p. 479-494.
- SHERMA, J., ZWEIG, G., eds, *Analytical methods for pesticides and plant growth regulators* New York, Academic Press, 1973, p. 479-494.
- DUBOSQ, F., DEDDE, M., Dosage du vamidothion technique ou formulé par chromatographie en phase gazeuse *J. Chromatogr. V. 71*, p.557-561, 1972.
- GAVA, A. J. *Princípios de Tecnologia de Alimentos*. São Paulo, Nobel, 1978. 284p. il. 20cm.
- GUAN, X.; DAVIS, M.R.; JIN, L.; BAILLIE, T. A. Identification of S-(n-Butylcarbamoyl) glutathione, a reactive carbamoylating agent, as biliary metabolite of benomyl in the rat. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, v.42, p. 2953-2957, 1994.
- ITAK, J.A.; SELISKER, M.Y.; JOURDAN, S.W.; FLEEKER, J.R.; HERZOG, D.P. Determination of benomyl (as carbendazim) and carbendazim in water , soil and fruit juice by magnetic particle-based immunoassay. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, v. 41, n. 12, p. 2329-2332, 1993.
- LIU, C.H.; MATTERN, G.C.; YU, X.; ROSEN, J.D. Determination of benomyl by high performance liquid chromatography, mass spectrometry/selected ion monitoring. *J. Agric.Food Chem.*, Washington, v. 38, n. 1, p. 167-171, 1990.
- LUKE, M.A, FROBERG,J.E., MASUMOTO, H.T. Extraction na clean up of orgachloorine, organophosphate, organonitrogen and hidrocarbon pesticides in produce for

- determination by gas-liquid chromatography. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, v. 58, n. 5, p. 1020-1026, 1975.
- MEDINA, J.C., Abacaxi: Cultura, matéria prima e aspectos econômicos. Séries frutas tropicais 2 ITAL 2ed. p.57-70, 1987.
- OLIVEIRA, J. J. V.; SIGRIST, J. M. M.; SPULVERATO, C. A.; POHLMANN, M. Degradação de benomil em mangas *palmer* tratadas pós-colheita. Pesticidas: R. Ecotoxicologia e Meio Ambiente, Curitiba, v. 7, p. 25-32, Jan./Dez. 1997.
- OOGHE, W., DRESSELAERTS, D., Quality Parameters for Pineapple Juice Fruit Processing v. 1, n. 2, p. 11-17, 1995.
- RIEDERER, M.; SCHREIBER, L. Waxes. The transport barriers of plant cuticles. Ch. 3. In Waxes: Chemistry . Molecular Biology and Functions. Hamilton. R.J. Ed. P. 131. The Oil Press. Dundee. Scotland, 1995.
- SAVITCI, L.A., GASPARINO FILHO, J., MORETTI, V.A Perfil Industrial e de Mercado para Suco de Abacaxi. Colet. Ital, v. 25, n.2, p. 153-168, 1995.
- SCALON, S. P. Q.; OLIVEIRA, J. J. V.; LIMA, L. C. O. Resíduos de benomil em polpas de mangas *haden* armazenadas em atmosfera modificada. Pesticidas: R. Ecotoxicologia e Meio Ambiente, Curitiba, v. 6, p. 43-54, 1996.
- TISSEAU, R., Valorisation de déchets de conserverie d'ananas. Possibilités d'extraction de bromeline Fruits, v. 41, n. 12, p. 703-708, 1986.
- TSUMURA, Y.; MATSUKI, H.; TONOGAI, Y.; NAKAMURA, Y.; KATO, S.; ITO, Y. Simultaneous determination of vamidothion and its oxidation metabolites in potatoes and apples by gas chromatography. Journal of Food Protection. V. 56, n. 5, p. 433-440, 1993.
- WHITE, E.R.; KILGORE, W.W. Determination of systemic MBC residues in food crops treated with benomyl fungicide. J. Agric. Food Chem. V. 20, n. 6, 1972.
- ZEUTEN,P., CHEFTEL J.C., ERICKSSON, C., GORMLEY T.R.,LINKO,P., PAULIN. Processing and Quality Foods. 1ed. Elsevier Applied Science Vol. 1, p. 4-23, 1990.

CAPÍTULO 5 –

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS RESIDUAIS DE DIURON E PARATION METÍLICO NOS SUB-PRODUTOS DO ABACAXI (*Smooth cayenne*) PROCESSADO

1 RESUMO

Abacaxi havaiano (*Smooth cayenne*) cultivado no campo, foi submetido a aplicação dos pesticidas diuron (krovar) e paration metílico (Folidol 600). Após colheita e antes do processamento, os abacaxis foram separados em amostras não lavadas e lavadas (100 ppm Hipoclorito). Separaram-se a polpa e os subprodutos (casca, miolo, extremidade) dos abacaxis lavados e estes foram submetidos aos processamentos de branqueamento (95 °C/min) e pasteurização (91,5 °C/30 s). Foram analisados resíduos de paration metílico por cromatografia gasosa (Detector Termoiônico Específico) e diuron por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (detector uv/visível). Não foram detectados diuron em nenhuma amostra dentro do limite de quantificação do método (0,1mg/kg). Porém foram detectados paration metílico nos subprodutos: sem lavagem (0,013mg/kg), com lavagem (0,013mg/kg), após branqueamento (0,024mg/kg), após pasteurização (0,023 mg/kg), bagaço (0,052mg/kg). Os níveis encontrados de paration metílico nos subprodutos estão abaixo dos limites estabelecidos pela legislação brasileira de resíduos e pesticidas (0,1mg/kg). Os sucos obtidos dos subprodutos do abacaxi processado e o bagaço podem ser utilizados para consumo humano ou ração animal, respectivamente, em relação a legislação brasileira de resíduos de pesticidas.

2 INTRODUÇÃO

O processamento dos alimentos é um dos recursos mais antigos utilizados pelo homem para estender a vida de prateleira dos mesmos ou para melhorar a sua qualidade. Dentre os vários tipos de alimentos processados, os sucos obtidos a partir de frutas naturais, são um dos mais requisitados pelo consumidor devido a sua praticidade na hora do consumo. Estes alimentos, antes de atingir o produto final, são submetidos a várias etapas de processamentos como seleção, lavagem, branqueamento, pasteurização até atingir determinada característica aceitável pelo consumidor. O processamento de sucos de frutas e produtos elaborados a base

de frutas é sempre precedido por atividades agrícolas de proteção a estas culturas frutíferas (ELKINS, 1989; AMEND, 1996).

O Brasil possui uma área plantada de 44.338 hectare de abacaxi e uma produção anual de 914.229 toneladas. O Estado de Minas Gerais é o primeiro produtor com uma área plantada de 15.622 hectare, com produção de 311.079 toneladas de abacaxi, correspondendo a 34% e 35,2% da área e da produção total do Brasil, respectivamente (IBGE, 1996). Além do seu consumo *in natura*, o suco obtido do abacaxi está em terceiro lugar na preferência mundial entre os consumidores (SAVITICI et al., 1995). O Brasil, até 1994, estava entre os 20 maiores exportadores de suco de abacaxi do mundo, ocupando a décima posição (KORTBECH-OLESEN, 1996).

Durante o seu cultivo, o abacaxi, como toda cultura frutífera, está sujeito ao ataque de pragas como a broca (*Thecla basilides*), a cochonilha (*Dysmicoccus brevipes*) e a ervas daninhas como o sapé (*Imperata sp*), o caruru (*Amaranthus hybridus L*) e a tiririca (*Cyperus rotundus*). A incidência destas pragas acarretam destruição ou diminuição da produção de abacaxi, podendo também comprometer a qualidade do fruto destinado a comercialização interna e a exportação. A aplicação de agrotóxicos pode ser uma das alternativas para neutralizar estas adversidades (DE BORTOLI, 1982; DURIGAN, 1982).

Os agrotóxicos utilizados no abacaxi para combater o ataque de insetos e ervas daninhas são o paration metílico (Folidol 600) e o diuron (krovar), respectivamente (Figura 1).

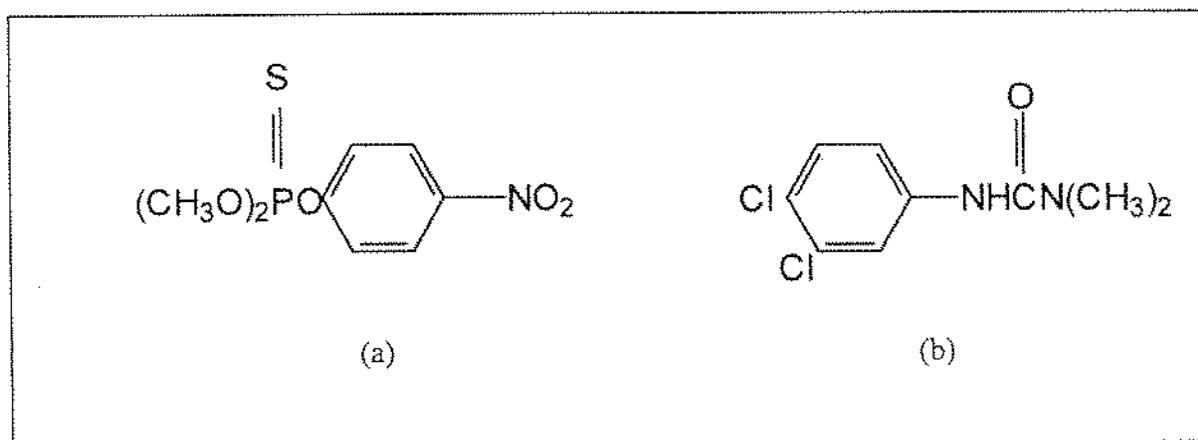


Figura 1. Estruturas moleculares do paration metílico (a) e do diuron (b).

O paration metílico é o segundo inseticida mais aplicado no mundo, segundo Benett ,1990 citado por BAYNES *et al.* 1995. Classifica-se como um organofosforado de contato,

sendo aplicado durante a fase de desenvolvimento do fruto para garantir o crescimento normal deste. O diuron é um herbicida seletivo sistêmico, classe toxicológica III, derivado da uréia, empregado em várias culturas, sendo que na cultura do abacaxi é aplicado antes da floração. Segundo AMEND, 1996, os herbicidas são compostos que destroem plantas daninhas inibindo o processo normal de fotossíntese. Testes por via oral em ratos machos apresentou DL₅₀ para o diuron de 3400 mg/kg.

Antes da década de noventa, as indústrias usualmente processavam a polpa do abacaxi para obtenção do suco e desprezavam os seus subprodutos como a casca e a extremidade. Este procedimento naturalmente acarretava prejuízos, considerando-se que toneladas destes subprodutos poderiam ser significativamente aproveitados. Entretanto, a partir de 1991, segundo SAVITCI *et al.* 1995, o Brasil passou a exportar o suco de abacaxi preparado a partir de seus subprodutos. Atualmente algumas indústrias de suco mantêm esta prática de aproveitamento integral da fruta, porém este procedimento tecnológico pode afetar a qualidade do suco, podendo, também, aumentar o risco de contaminação por agrotóxicos, caso a matéria prima não tenha sido cultivada segundo as boas práticas agrícolas. Dependendo dos níveis de resíduos de pesticidas encontrados no suco, este alimento pode estar impróprio para consumo, considerando-se que a presença destes resíduos está associada com questões toxicológicas.

No Brasil não existe trabalho avaliando os níveis de resíduos de pesticidas em suco de abacaxi processado, assim como não há dados sobre os níveis destes resíduos nas diversas etapas do processamento.

Baseado nos aspectos apresentados, o objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis de resíduos de pesticidas no suco processado a partir da polpa e nos subprodutos do abacaxi, e quantificar os níveis destes resíduos em cada etapa do processamento.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 DEMARCAÇÃO NO CAMPO

Abacaxis de variedade havaiano (*Smooth cayenne*) foram plantados em Dezembro de 1996 e coletados em Março de 1998 na fazenda Nova Esperança município de Canápolis (Estado Minas Gerais). Cultivaram-se as frutas em uma área de 15 hectares (31.250

abacaxis/hectares), com espaçamentos de 1,0 m entre as linhas dupla, 0,60 m entre linhas da linha dupla e 0,40 m entre cada fruta na mesma fileira.

3.2 APLICAÇÃO DE AGROTÓXICOS

O diuron (Krovar) foi aplicado 2 vezes (3 kg/ha). Realizou-se a primeira aplicação em área total com trator equipado com barra sem adaptação e a segunda antes da indução floral com jato dirigido adaptado com pistolas com bico tipo leque.

O paration metílico (folidol 600) foi aplicado três vezes (0,15%) após o plantio para controle da cochonilha (*Dysmicoccus brevipes*) e quatro vezes (0,15%) após floração para controle da broca (*Thecla basilides*). As pulverizações foram realizadas com intervalo de quinze dias com pulverizador de barra tratorizada e adaptada com pistolas com bico tipo cônico para aplicação manual fruto a fruto.

A lavoura foi irrigada, durante o período da seca (maio a setembro) com uma lâmina de 84 mm mensais, com turno de rega de 10 dias.

3.3 AMOSTRAGEM DOS ABACAXIS

De cada uma das três áreas reservadas para amostragem, colheram-se aleatoriamente 50 abacaxis com carência de 90 dias. Transportaram-se as amostras até a planta piloto, onde foram submetidas a processamento.

3.4 PROCESSAMENTO

Dividiram-se cada um dos três lotes de amostra em duas partes de 20 (não lavado) e 30 abacaxis, sendo estes submetidos a lavagem com hipoclorito de sódio 100 ppm durante 2 minutos utilizando-se de uma bucha para eliminação das sujeiras. O processamento está ilustrado na figura 2.

3.4.1 Abacaxis não lavados:

Separaram-se a polpa e os subprodutos (casca, miolo, extremidades) dos abacaxis não lavados. Descartaram-se a polpa, trituraram-se os subprodutos e obteve-se o suco após extração no finisher (A1)

3.4.2 Abacaxis lavados com hipoclorito de sódio (100 ppm):

Separaram-se a polpa e os subprodutos dos abacaxis lavados. Em separado trituraram-se ambas as partes e extraíram-se seus respectivos sucos no finisher (A2 e A3). Parte do suco obtido dos subprodutos foi misturado com o bagaço e em seguida esta mistura foi submetida a choque térmico a vapor (95 °C/1 min) e posteriormente extraiu-se o suco no finisher (A4). Uma fração deste suco foi pasteurizada em pasteurizador tubular (91,5 °C/30s) (A5). O bagaço restante (A6) da extração, assim como todas as amostras de suco, foram acondicionadas em frascos de vidro e armazenadas em freezer (-20 °C) até a ocasião das análises.

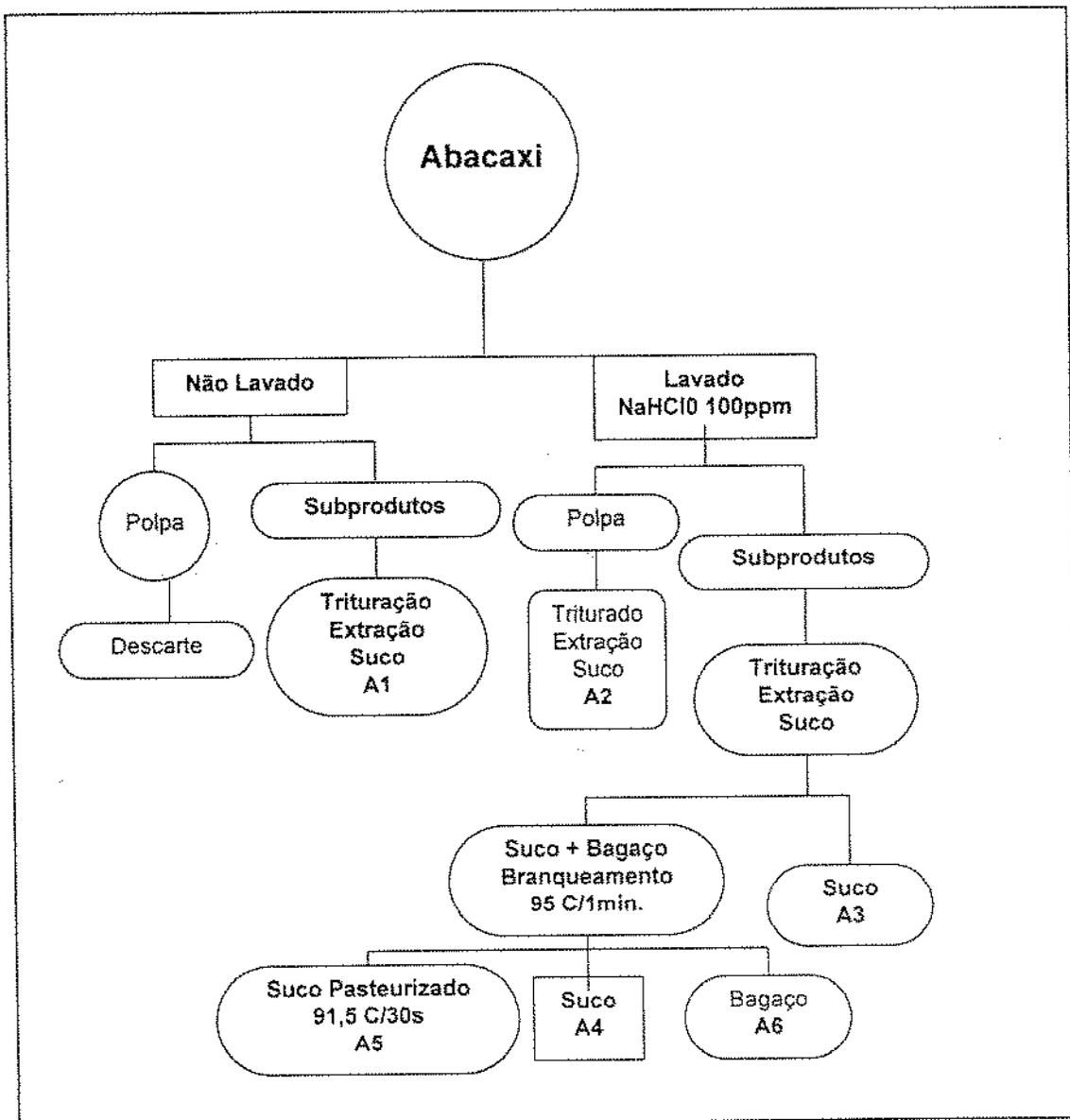


Figura 2. Ilustração do processamento dos subprodutos do abacaxi.

3.5 MÉTODOS DE ANÁLISE

3.5.1 MÉTODO DE LUKE *et al.* 1975.

Utilizou-se o método modificado de Luke et al (1975) para extração de paration metílico. Pesou-se 10 g de amostra em erlenmeyer de 250 mL, adicionou-se 150 mL de acetona e extraiu-se durante 1 hora em agitador horizontal. Filtrou-se a vácuo com papel filtro Whatman n°. 1, 125mm, adaptado em funil büchner acoplado em Kitassato. Lavou-se o erlenmeyer e o büchner com acetona e o filtrado foi transferido para um balão volumétrico de 200 mL, completando-se o volume. Retirou-se uma alíquota de 10ml que em seguida foi colocado em funil de separação de 500 ml. Adicionou-se 5 mL de solução de permanganato de potássio 0,02% e 20 mL do tampão fosfato (0,1367g de $K_2H_2PO_4 \cdot 3H_2O$ e 0,9886 g de $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ em 100mL de água deionizada). Particionou-se 3 vezes com 80 mL de diclorometano, agitou-se vigorosamente e descartou-se a fase aquosa. Percolou-se as três fases inferiores constituídas por diclorometano em sulfato de sódio anidro (previamente muflado a 400°C durante 8 horas e posteriormente mantido em dessecador). Recolheu-se em balão de 250 mL e evaporou-se em rotavapor a ± 40 °C. Retomou-se em 10 mL de acetona em um tubo concentrador e evaporou-se até a secura em ar comprimido. Completou-se o volume para 1 mL de acetona e injetou-se em cromatógrafo gasoso Varian modelo 3.400 equipado com detector termoiônico específico (TSD). As condições cromatográficas foram: fase móvel ($N_2 = 10$ psi), ar (175 ml/min), H_2 (5 ml/min), pérola (corrente 3.100), coluna megabore DB – 608. Temperatura de coluna (245 °C) injetor (250 °C) e detector (300 °C). Registrador com velocidade de papel de 30 cm/min, sensibilidade de 1 mV.

3.5.2 MÉTODO DE BARDALAYE & WHEELER, 1985

Para análise de diuron utilizou-se o método modificado de BARDALAYE & WHEELER, 1985. Pesou-se 5 g de amostra em erlenmeyer de 250 mL, adicionou-se 100 mL da mistura metanol:tampão (0,1367g de $K_2H_2PO_4 \cdot 3H_2O$ e 0,9886 g de $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$) (60:40) e extraiu-se em agitador horizontal durante 30 minutos. Filtrou-se em papel de filtro Whatman n0. 41, 125mm, lavando-se o funil e o erlenmeyer com a mistura metanol:tampão (60:40). Transferiu-se o filtrado para funil de separação de 500 ml e particionou-se 2 vezes com 50 ml de clorofórmio. Descartou-se a fase aquosa e recolheu-se as fases de clorofórmio. Lavou-se o clorofórmio duas vezes com 30 mL de água e descartou-se esta. Filtrou-se em sulfato de sódio anidro toda a fase de clorofórmio e recolheu-se em balão de fundo chato de

500 ml. Evaporou-se em ar comprimido até a secura e retomou-se em 5 ml de metanol. Filtrou-se o extrato metanólico em filtro de membrana de 0,25 micrometro e injetou-se em cromatógrafo líquido de alta eficiência Varian modelo 9002 equipado com detector uv/v Varian modelo 9050 a 254 nm. Utilizou-se coluna RP-18 5 micrometros de 15 cm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, loop de 10 microlitro, RCDR/AUFS de 0,01, fluxo de 1,0 ml/min.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de recuperação do paration metílico para níveis de fortificação de 1,0 mg/kg e 0,1 mg/kg estiveram na faixa de 88% a 120%, enquanto o diuron apresentou recuperações na faixa de 90% a 98% nos níveis de fortificações de 1,0 mg/kg, 0,5 mg/kg e 0,1 mg/kg.

Não foram detectados resíduos de diuron em nenhuma amostra dentro do limite de quantificação do método (0,1 mg/kg). Resultado semelhante foi obtido por ELY *et al.*, 1993, após analisar diuron em amoras colhidas com carência de cento e vinte dias.

Embora o herbicida diuron seja persistente e sistêmico, a sua não detecção dentro do limite de quantificação do método pode ser atribuída a vários fatores. Depois que o herbicida é aplicado no solo, o mesmo está sujeito a ação de diferentes processos que promovem a sua inativação tais como: absorção e metabolismo pelos microrganismos do solo, adsorção a minerais e colóides orgânicos, diluição por chuvas ou irrigação, reações químicas, alterações fotoquímicas, volatilização e absorção pelas plantas superiores, segundo SHETTS, 1964. O mesmo autor reportou que a persistência do diuron no solo varia de 6-12 meses, e que sua permanência no solo vai depender das propriedades do solo, atividade microbiana, chuvas, irrigação e condições climáticas.

Os resultados das análises de resíduos de paration metílico no suco obtido da polpa e nas diversas etapas do processamento dos subprodutos do abacaxi encontram-se na tabela 1.

TABELA 1. Níveis De Resíduos De Paration Metílico Nos Sucos Obtidos Dos Subprodutos Do Abacaxi Nas Diversas Etapas De Processamento E No Bagaço. Média De Tres E Duas (**) Determinações Com Desvio Padrão(Ds).

ETAPAS DO PROCESSAMENTO (1 -6)		CONCENTRAÇÃO RESIDUAL (mg/kg) ± DS
Sem Lavagem		
1-Subprodutos	(A1)	0,013 ± 0,003
Com Lavagem		
2-Polpa	(A2)	Nd
3-Subprodutos	(A3)	0,013 ± 0,002
4-Subprodutos Branqueamento	(A4)	0,024 ± 0,001
5-Subprodutos Pasteurizado	(A5)	0,023 ± 0,002 (**)
6-Bagaço dos subprodutos	(A6)	0,052 ± 0,004

Nd – não detectado (abaixo o limite de quantificação do método 0,005 mg/kg)

Apesar de não ter sido detectado paration metílico no suco procedente da polpa dos abacaxis lavados (Tabela 1), foi detectado este organofosforado em todos os sucos oriundos dos processamentos dos subprodutos dos abacaxis. Este comportamento pode ser atribuído a atuação de contato do paration metílico, ficando grande parte dos resíduos retidos na casca da fruta. Este resultado apresentou coerência com alguns trabalhos que confirmaram atuação da casca como escudo protetor à penetração de pesticidas na polpa (SCALON et al., 1996; OLIVEIRA et al., 1997). Por outro lado é importante ressaltar que o grau de migração do resíduo da casca depende do substrato e da natureza química do pesticida (AWASTI, 1993).

Os níveis residuais de paration metílico encontrados no suco obtido dos subprodutos após lavagem não apresentaram redução em relação aos níveis encontrados no suco obtido a partir dos subprodutos não lavados. Resultado semelhante foi encontrado por FARROW *et al.*, 1969, quando não obteve nenhuma remoção de paration ao submeter amostras de brócolis a lavagem com água pelos procedimentos caseiros e comercial. THOMPSON & MIDDELEM (1955) obtiveram remoções de paration de 16%, 36% e 65% após lavagem com água de

tomate, feijão verde e mostarda, respectivamente. Provavelmente estes resultados com remoções maiores podem ser atribuído à superfície lisa destes produtos em comparação ao abacaxi que, por apresentar casca com morfologia áspera e rugosa, dificulta a remoção dos resíduos de sua superfície. Associado com esta característica morfológica do abacaxi, soma-se o mecanismo de difusão descrito por RIEDERER & SCHREIBER, 1995. Segundo estes pesquisadores, após tratamento com os pesticidas as moléculas destes penetram por difusão na cera epicuticular presente na superfície das frutas. Desta forma, durante a lavagem com água, a cera não permite a solubilização do pesticida, ficando este aderido a casca. Segundo Foster & Fox(1954) citado por COLLINS, 1960, o abacaxi em média possui 1,4% de cera na cascas.

Na quarta etapa (A4) do processamento, correspondente ao branqueamento, ocorreu um aumento (45,8%) do nível de paration metílico em relação a etapa anterior. Este resultado justifica-se pela perda de água do produto em decorrência do processo de branqueamento que utilizou vapor. Segundo CABRAS et al. (1998) durante o processamento que promove a evaporação de água, pode ocorrer aumento de concentração de pesticida em função da perda de água. Neste caso as condições do branqueamento foram diferentes daquelas utilizadas no trabalho de ELKINS, 1989, que reportou diminuição em 71% de paration após branqueamento do espinafre.

Na quinta etapa (A5), após pasteurização do suco dos subprodutos, não ocorreu nenhuma mudança significativa no nível de resíduo de paration metílico em comparação ao nível encontrado no suco na etapa anterior

Na última etapa (A6), que corresponde ao bagaço não inteiramente seco, obteve-se 0,052 mg/kg de paration metílico, a maior concentração (quatro vezes mais que a menor concentração encontrada) em todas as etapas do processamento. ELKINS 1989, reportou aumento de concentração de pesticidas em amostras em base seca comparadas com as mesmas em base úmida. Ele citou o caso do incremento em 11% da concentração de paration em brocolli desidratado em relação ao fresco após a etapa de lavagem.

5 CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos neste trabalho, conclui-se que todas as amostras de suco e o bagaço estão próprias para consumo humano e ração animal, respectivamente, em relação a legislação brasileira de resíduos de pesticidas (Paration metílico 0,2 mg/kg e Diuron 0,1 mg/kg) (BRASIL, 1994).

Por apresentar maior concentração de paration metílico no bagaço, a casca atua como sistema de proteção à penetração deste pesticida.

Nem sempre o processamento promove degradação dos resíduos de pesticidas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMEND, P., Avoiding the risk of residues in fruit preparations (Particularly in Baby Foods).
Fruit Processing, v. 1, p. 12-16, 1996.
- AWASTI M.D., Decontamination of Insecticide residues on Mango by Washing and Peeling
J. Food Sci. Technol., v. 30, n. 2, p. 132-133, 1993.
- BARDALAYE, P.C., WHEELER, W.B. Simplified method for the clean-up and reversed-phase high performance liquid chromatographic determination of benomyl in mangoes.
Journal Chromatographic, Amsterdam, v. 330, p. 403-407, 1985.
- BAYNES, R.E., BOWEN, J.M., Toxicokinetics of Methyl Parathion in Lactating Goats J. Agric. Food Chem. V. 43, n. 6, p. 1598-1604, 1995.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Legislação Brasileira de Resíduos de Pesticidas. 1994.
- CABRAS, P., ANGIONI, A., GARAU, V.L., MINELLI, E.V., CABITZA, F., CUBBEDDU, M
Ital. J. Food Sci. V.10, n. 1, p. 81-85, 1998.
- COLLINS, J.L., By-products In: THE PINEAPPLE: Botany, Cultivation, and Utilization . 1.
Ed. New York, USA: Interscience Publishers Inc. 1960. P. 246-257.
- DE BORTOLI, S.A ., Broca do fruto e cochonilha do abacaxi In: : I Simposio Brasileiro de Abacaxicultura Ed. Carlos Ruggiero, Campinas, 1982.
- DURIGAN J.C., Controle de plantas daninhas na cultura de abacaxi In: I Simposio Brasileiro de Abacaxicultura Ed. Carlos Ruggiero, Campinas, 1982.
- ELKINS, E.R., Effect of commercial processing on pesticide residues in selected fruits and vegetables. J. Assoc. Off. Anal. Chem. v. 72, n. 3, p. 533-535, 1989.
- ELY, C.B., FRANS, R.E., TALBERT, R.E., MATTICE, J.D. Determination Diuron, Simazine, and Methocarb residues in Highbush Blueberries (*Vaccinium corymbosum*) Hort Science, v. 28, n. 1, p.33-35, 1993.
- FARRIS, G.A ., CABRAS, P., SPANEDDA, L., Pesticide residues in Food Processing. Ital. J. Food Sci. n. 3, p.149-169, 1992.
- FARROW, R.P., LAMB, F.C, ELKINS, R.W, COOK, R.W, KAWAI, M, CORTES, A.
Effect of comercial and home preparative procedures on parathion and carbaryl residues in broccoli. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 7, n. 1, p. 75-9, Jan./Feb. 1969.
- IBGE, Anuário Estatístico do Brasil, p. 3-51, 1996.

- KORBERETCH- OLESEN, R., U.S. Tropical fruit products: a well established market market International Trade FORUM. v. 2, p. 10-15, 34-35, 1996.
- LUKE, M.A, FROBERG,J.E., MASUMOTO, H.T. Extraction na clean up of orgachloorine, organophosphate, organonitrogen and hidrocarbon pesticides in produce for determination by gas-liquid chromatography. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, v. 58, n. 5, p. 1020-1026, 1975.
- MEDINA, J.C., Abacaxi da cultura ao processamento e comercialização. Séries frutas tropicais 2 ITAL p. 41-58, 1978.
- OLIVEIRA, J. J. V.; SIGRIST, J. M. M.; SPULVERATO, C. A.; POHLMANN, M. Degradação de benomil em mangas *palmer* tratadas pós-colheita. Pesticidas: R. Ecotoxicologia e Meio Ambiente, Curitiba, v. 7, p. 25-32, Jan./Dez. 1997.
- RIEDERER, M., SCHREIBER, L., Waxes. The transport barriers of plant cuticles. Ch. 3. In Waxes: Chemistry. Molecular Biology and Functions. Hamilton. R.J. Ed. p. 131. The Oily Press. Dundee. Scotland, 1995.
- SAVITCI, L.A ., GASPARINO FILHO, J ., MORETTI, V.A Perfil Industrial e de Mercado para Suco de Abacaxi. Colet. ITAL, v. 25, n. 2, p. 153-168, 1995.
- SCALON, S. P. Q.; OLIVEIRA, J. J. V.; LIMA, L. C. O. Resíduos de benomil em polpas de mangas *haden* armazenadas em atmosfera modificada. Pesticidas: R. Ecotoxicologia e Meio Ambiente, Curitiba, v. 6, p. 43-54, 1996.
- SHEETS, T.J., Review of disappearance of Substituted Urea Herbicides from Soil J. Agricultural and Food Chemistry v. 12, n. 1, p. 30-33, 1964.
- THOMPSON, B. D.; MIDDELEM, C. H. VAN. The removal of toxaphene and parathion residues from tomatoes, green beans, celery and mustard with detergent washings. Proceeding American Society for Horticultural Science, v. 65, p. 357-64, 1955.

CAPÍTULO 6 –

O EFEITO DA HOMOGENEIZAÇÃO A ALTAS PRESSÕES SOBRE A ESTABILIZAÇÃO DA TURBIDEZ E AS PROPRIEDADES REOLOGICAS DO “MILL JUICE”.

1 RESUMO

Amostras de “mill juice” (subprodutos de abacaxi, cascas, miolo, extremidades), com teor de polpa de 34,7 % e 54,3% foram homogeneizados em dois estágios com um homogeneizador Gaulin de dupla pistão tipo 15M, 8TA, SMD. As pressões utilizadas no experimento foram: no primeiro estágio 6000 psi, 7000 psi e 8000 psi e no segundo estágio 500 psi. Embora houve uma melhora significativa na textura, consistência e aparência do suco, a utilização de altas pressões não evitou que todas as amostras sedimentassem. A sedimentação ocorreu rapidamente e os ensaios qualitativos demonstraram que as amostras homogeneizadas a 6000 psi sedimentaram mais vagarosamente que as de 7000psi e 8000 psi respectivamente. As amostras não homogeneizadas sedimentaram em menos tempo que as amostras homogeneizadas. Todas as amostras homogeneizadas analisadas em microscópio eletrônico com aumento de 40x apresentavam mudança na morfologia, as células que antes da homogeneização tinham características ovóides, após a homogeneização estavam esticadas e tinham semelhança com fios desfiados de uma mecha. As características reológicas do suco foram medidas no Reometro de Haake rotavapor RV-20. Foram determinados os parâmetros de Tensão Inicial (K_0), viscosidade aparente, e viscosidade plástica de todas as amostras (homogeneizadas e não homogeneizadas). Foi utilizado o parâmetro de K_0 para determinar a maior ou a menor tendência dos sucos a sedimentarem. Todas as amostras não homogeneizadas possuíam maior valor de K_0 e sedimentavam mais vagarosamente que as amostras homogeneizadas. As amostras homogeneizadas a 8000 psi apresentava o menor valor de K_0 de todas as amostras homogeneizadas (0,47 Pa), e sedimentavam com maior rapidez que as amostras homogeneizadas a (7000 psi e 6000psi) respectivamente. Sendo o K_0 ($\text{Pa}^{1/2}$) um parâmetro de ajuste e não um valor detectado diretamente pelo reômetro, foi utilizado o modelo de Casson $\tau^{1/2} = K_0^{1/2} + K_c \gamma^{1/2}$ para correlacionar os valores de tensão de cisalhamento (τ) e taxa de deformação ($\dot{\gamma}$) encontrados nas amostras. Todas as amostras

homogeneizadas ajustaram-se ao modelo e apresentaram coeficiente de correlação (R^2) de 0,99, com exceção das amostras com teor de polpa 34,7% homogeneizada a 6000 psi que apresentou valores de R^2 de 0,90. As amostras não homogeneizadas não se ajustaram ao modelo e apresentavam coeficientes de correlação muito baixos, pelo tanto sem nenhuma utilidade prática.

2 INTRODUÇÃO

O processo de homogeneização está sendo, desde algum tempo, utilizado na indústria dos sucos e néctares de frutas com a finalidade de melhorar a aparência e textura do produto, além de evitar a sedimentação dos sólidos em suspensão. Diversos trabalhos neste campo foram aplicados em sucos e néctares e tem mostrado que a viscosidade aparente aumenta e o tamanho da partícula diminui após homogeneização (ASKAR, 1992; STOFOROS *et al*, 1992). Muitas características de qualidade dos sucos como consistência, viscosidade, textura, homogeneidade, separação da polpa e aparência são afetados pelo tamanho das partículas ROY, 1997. Diferentes produtos como leite, molhos para saladas, iogurte, misturas de sucos, alimentos infantis, molhos de tomate são processados utilizando homogeneizadores para evitar a separação de fases nos alimentos (O'DONEL e BERNE, 1997; STOFOROS e REID, 1992). Existem dois tipos de homogeneizadores que estão sendo utilizados na indústria de sucos e néctares de frutas: os moinhos coloidais e os homogeneizadores de pressão. Nosso trabalho foi realizado em um homogeneizador a pressão Gaulin, tipo 15M, 8TA, SMD de dupla pistão (2 estágios).

O homogeneizador a pressão é essencialmente uma bomba de pistões de alta pressão (até 560 bar), provida de uma válvula especial de estrangulamento, denominada válvula homogeneizadora. O produto entra por um orifício na sede da válvula, cuja saída é fechada por um êmbolo pelo aperto de uma mola ou pistão hidráulico. Pela pressão do produto, o êmbolo recua uma fração de milímetro e o produto sai por esta folga com uma velocidade extremamente elevada, até 300m/seg, batendo contra um anel de impacto, disposto em volta da válvula.

Pela queda brusca de pressão e o impacto, as partículas de sólidos ou líquidos suspensos no produto se fracionam em partículas extremamente pequenos, tipicamente na faixa de 0,1 a 10 μ m, conforme as condições de operação. Em certos casos, por ex. em produtos de elevado teor de gordura como creme de leite ou massa de sorvete, a

homogeneização produz partículas extremamente finas, mas estas partículas na saída da válvula homogeneizadora, se aglomeram formando pequenos grumos.

Neste caso são usadas duas válvulas homogeneizadoras em série: na primeira, onde ocorre a maior parte da queda de pressão se efetua a micronização das partículas; na segunda, os aglomerados destas partículas são desmanchados, resultando em um produto com boa dispersão. No nosso caso utilizamos as duas válvulas para favorecer a dispersão. As molas de ambas as válvulas são reguláveis, e relaxando por completo a mola da segunda válvula, pode-se operar o homogeneizador em um só estágio, adequado para a maioria dos produtos. (O' DONELL *et al.*, 1997; APV-GAULIN, 1982).

Sendo a estrutura celular do suco de abacaxi composto basicamente de fibras, achamos muito importante conhecer o comportamento da fibra perante o tratamento da homogeneização trabalhando com altas pressões. As fibras exercem uma grande influência sobre o comportamento reológico do suco. O abacaxi é rico em hemicelulosas (41,8%), celulosas, ligninas e substâncias pectínicas (VIDAL *et al.*, 1982). Em um estudo de fibras em subprodutos de abacaxi reportou a presença de hemicelulosas, celulosas, ácido urônico e maior quantidade de lignina em relação à fruta fresca. O total de fibras do abacaxi correspondem a 99% do total de componentes sólidos insolúveis dos subprodutos (cascas, extremidades) LARRAURI, 1997.

O termo considerado mais adequado é Fibra Alimentar Total (FAT), que inclui todos os polímeros não digeríveis presentes nos alimentos e não degradáveis por enzimas digestivas do intestino delgado (Gordon, 1989, citado por Vidal, (1997). Os principais componentes da FAT são as celulosas, β -glucana, pectina, hemicelulose, lignina, gomas e mucilagens (Schneeman, 1989, citado por VIDAL, 1997). As fibras podem ser classificadas quanto ao seu efeito fisiológico em fibras solúveis e fibras insolúveis. As fibras solúveis em água são representadas pela pectina, as gomas e certas hemicelulosas. ex: feijão, frutas, aveia e cevada e as fibras insolúveis são constituídas pela celulose, hemicelulose e lignina. ex: (verduras e a maioria dos grãos de cereais). (Franco, 1992, citado por VIDAL, 1997).

Uma dispersão de sucos contém um grande número de fibras. Através de técnicas de processamento, estas fibras formam uma estrutura que é responsável pela viscosidade do produto e pela sua capacidade de reter água livre. Uma grande redução no tamanho dessas fibras causadas por alguns equipamentos mecânicos de processamento, pode destruir a

estrutura das fibras, reduzindo desta forma a viscosidade dos produtos e aumentando a separação do soro. A homogeneização causa a fibrilação dos fios de fibra sem uma redução significativa do tamanho das fibras, a fibra adquire a forma parecida com um cabo desfiado, e pode reter água como faria um pavio de mecha de uma lamparina. O resultado será um produto de maior viscosidade, e a redução da separação de fases. Infelizmente este processo tem as suas limitações: Se aplicar uma alta pressão de homogeneização, a rede de fibras se separa ou se rompe em um grande número de fibras individuais, absorvendo mais água, e aumentando a viscosidade, embora alguma fração de água livre retida se separará rapidamente da rede devido a destruição de alguma estrutura que a mantinha pelo processo enérgico de alta pressão. Utilizando baixas pressões, existe um aumento da viscosidade embora ocorra uma maior separação de soro. Na prática, condições de processos ótimos são encontrados na base de um compromisso entre estes dois efeitos opostos (APV- GAULIN, 1982)

As faixas de pressão utilizadas para o tratamento de sucos com homogeneizadores a pressão são de 2500-3000 psi, mas ao tratar-se de produtos que contém grande quantidade de fibras, a pressão requerida pode ser acima de 5000 psi. A pressão utilizada depende grandemente do tipo de fruta.(BRADDOCK). Em um estudo realizado por GRANDI (1986) visando a estabilização dos sólidos do suco de abacaxi, utilizou-se um equipamento similar ao nosso e trabalhou-se com pressões de 1000psi ate 5000 psi no primeiro estagio, e 500 psi no segundo, mas não foram obtidos os resultados esperados e o suco sedimentou rapidamente.

Sendo a separação dos sólidos insolúveis um sério defeito de qualidade (ASKAR & TREPTOW, 1997) e sabendo que os homogeneizadores são muito utilizados na atualidade na planta de processamento de sucos e néctares de frutas, os objetivos deste trabalho foram utilizar pressões de homogeneização de (6000,7000 e 8000psi) para evitar a sedimentação dos sucos, determinar algumas propriedades reológicas e melhorar a aparência do suco feito dos subprodutos de abacaxi.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O suco (34,7% e 54,3% de teor de polpa) foi extraído dos subprodutos de abacaxi (cascas, miolo e extremidades). da variedade havaiana (Smooth cayenne), comprada no CEASA, de Campinas.

Os abacaxis foram lavados com 100 ppm de hipoclorito de sódio antes de serem processados. Posteriormente foram separados a polpa dos subprodutos de forma manual

(extremidades), e mecânica com a gínaca (miolo e cascas), da polpa. Os subprodutos foram cortados em pedaços pequenos e triturados em um multiprocessador. Os subprodutos triturados foram branqueados a vapor durante 1 minuto a aproximadamente 95°C com a finalidade de inativar enzimas pectinolíticas e abrandar os tecidos para obter maior rendimento da extração no finisher (mesh de 0,8 mm). Após extração, o suco foi aquecido em um tacho evaporador aberto até atingir 80°C. Foram enchidas com o suco quente as latas de 600 ml que passaram por um tunel de exaustão antes de serem recravadas. As latas com o suco foram pasteurizadas a (95°C/20 min.) em um tanque aberto. Após pasteurização as latas foram esfriadas rapidamente em água fria.

3.1 HOMOGENEIZAÇÃO

Para homogeneizar o suco feito dos subprodutos do abacaxi foi utilizado um homogeneizador a pressão (Gaulin de dupla pistão Tipo 15M, 8TA, SMD). No primeiro estágio utilizou-se três pressões (6000, 7000 e 8000 psi) para os diferentes tratamentos, e no segundo estágio se utilizou 500 psi para todos os tratamentos. Os sucos com 54,3% de teor de polpa foram submetidos a todos os tratamentos de homogeneização. Os sucos de 34,7% de teor de polpa só foram submetidos ao tratamento com 6000 psi. Foram utilizados 2,5 lt de amostra para cada tratamento. As latas foram abertas e o suco foi esquentado a 60°C/15 para retirar o ar do suco. O ar pode danificar o equipamento, além de impedir uma correta regulagem das válvulas do homogeneizador à pressão desejada. A vazão do homogeneizador foi de 1lt /min. A toma das amostras em todos os tratamentos sempre foi 1,5 min após o suco ter entrado no homogeneizador. Após colhidas foram postas em refrigeração (10-13°C) e analisadas no reômetro no dia seguinte. Uma parte das amostras de cada tratamento foi colocada em tubos especiais para avaliar a velocidade de sedimentação, que foi determinada qualitativamente. Todos os ensaios foram feitos em triplicatas.

As diferenças morfológicas das células fibrosas antes e após homogeneização foram observadas em um microscópio eletrônico com objetivos de 40x, com luz e sem luz polarizada. Algumas imagens observadas foram fotografadas (Vide figuras 1a,1b,2a e 2b).

3.2 METODO PARA AVALIAR AS TENDENCIAS DE UM SUCO PARA SEDIMENTAR

Foi escolhido como parâmetro de referência o K_0 (Tensão inicial) para determinar a maior ou menor tendência de sedimentação dos sólidos insolúveis.

Foi proposta esta metodologia após observar o comportamento de sedimentação dos sucos homogeneizados, quando comparando-os com seus respectivos valores de K_o . Observou-se que a velocidade de sedimentação aumentava em relação direta aos valores de K_o . A tensão Inicial (K_o) $\text{Pa}^{1/2}$, é a resistência que possui todo fluido para começar a escoar de acordo a Seguire, 1997

Não foi utilizada neste trabalho a equação de Stokes para medir a velocidade de sedimentação das partículas, devido ao fato que as estruturas morfológicas das células do suco mudaram de ovóides antes da homogeneização para esticadas com diferente longitude após, dificultando a escolha de um critério para avaliar o diâmetro da célula. Isto deu origem a necessidade de encontrar um método alternativo para avaliar a velocidade de sedimentação, sendo as observações de velocidade de sedimentação só medidas qualitativas.

O parâmetro K_o é um valor obtido do ajuste dos valores de tensão de cisalhamento e taxa de deformação medidos no reomêtro de Haake rotavapor RV-20, com sistema de medida ZA 30. A distância entre as placas paralelas foi de 0,5mm. Todas as amostras foram mantidas 1 hora no banho controlado termostaticamente a $20 \pm 0.1^\circ\text{C}$ antes das análises. O tempo de corrida foi de 4 minutos, completando um total de 40 pontos analisados, sendo 2 minutos para as faixas de velocidade de rotação crescentes e 2 minutos para as faixas decrescentes. Todas as medições foram feitas em triplicatas e os 2 valores mais próximos de K_o obtidos foram reportados para a discussão.

Para fazer o ajuste utilizou-se o modelo de Casson, que correlaciona valores dos parâmetros de tensão de cisalhamento e taxa de deformação.

Equação de Casson:

$$\tau^{1/2} = K_o + K_c \gamma^{1/2}$$

τ = Tensão de Cisalhamento (Pa)

γ = Taxa de Deformação (1/ s)

K_o = Tensão Inicial ($\text{Pa}^{1/2}$)

K_c = Viscosidade Plástica de Casson K_c ($\text{Pa} * \text{s}$)^{1/2}

Os dados fornecidos pelo softer acoplado ao reômetros são calculados no origin 3.5. Estes dados são os valores dos parâmetros de tensão de cisalhamento e taxa de deformação das 40 corridas detectadas pelo reometro.

Os valores de K_o (Pa)^{1/2} foram obtidos no programa origin 3.5 após o ajuste das raízes quadradas destes. Também foram obtidos os valores dos parâmetros de viscosidade plástica, coeficiente de correlação (R^2).

Obteve-se a viscosidade aparente (Pa*s), dividindo os valores dos parâmetros de tensão de cisalhamento pelos valores de taxa de deformação, ambos fornecidos pelo software acoplado ao reômetro Haake.

$$\eta = \tau/\dot{\gamma} .$$

3.3 AVALIAÇÃO SENSORIAL-

Só foram fornecidos dados de aparência.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os sucos feitos dos subprodutos de abacaxi (54,3% e 34,7% teor de polpa), melhoraram notavelmente a aparência após o processo de homogeneização, se apresentando mais encorpados e com uma maior homogeneidade das partículas em suspensão. A primeira vista não houve diferença na aparência do suco nos três tratamentos (6000, 7000 e 8000 psi). A diferença foi notável quando comparou-se estes aos sucos não homogeneizados. Todas as amostras de "mill juice" homogeneizadas nas diferentes pressões sedimentaram. Estes resultados são similares aos obtidos por (GRANDI et al, 1986; CARLE, 1998) que trabalhando com pressões altas de homogeneização (menores a 5000 psi), não conseguiram estabilizar o suco de abacaxi.

A viscosidade aparente dos sucos homogeneizados esteve em relação direta com os valores de K_o , e em relação inversa às pressões de homogeneização utilizadas. Para as mesmas amostras processadas e analisadas, quanto maior viscosidade aparente, maior valor de K_o e menor a pressão de homogeneização utilizada. Esta tendência também se manteve nas amostras não homogeneizadas (Tabela 1).

O K_o (Tensão inicial) e a viscosidade aparente diminuem drasticamente após o processo de homogeneização, isto pode ter relação com a perda da estrutura morfológica das

fibras que mudam da forma ovóide para alongadas. Estes mesmos parâmetros variaram em pequeno número entre as amostras homogeneizadas, no entanto estas diferenças são significativas, ao compará-las com as observações feitas de velocidade sedimentação. As amostras homogeneizadas que possuíam menor valor de K_0 sedimentavam com maior rapidez, em relação as que tinham maior valor. CRANDALL & DAVIS (1991), reportaram a diminuição da viscosidade aparente após homogeneização.

Figuras 1-6- Mudanças das características morfológicas e reológicas do "Mill Juice" antes e após a homogeneização

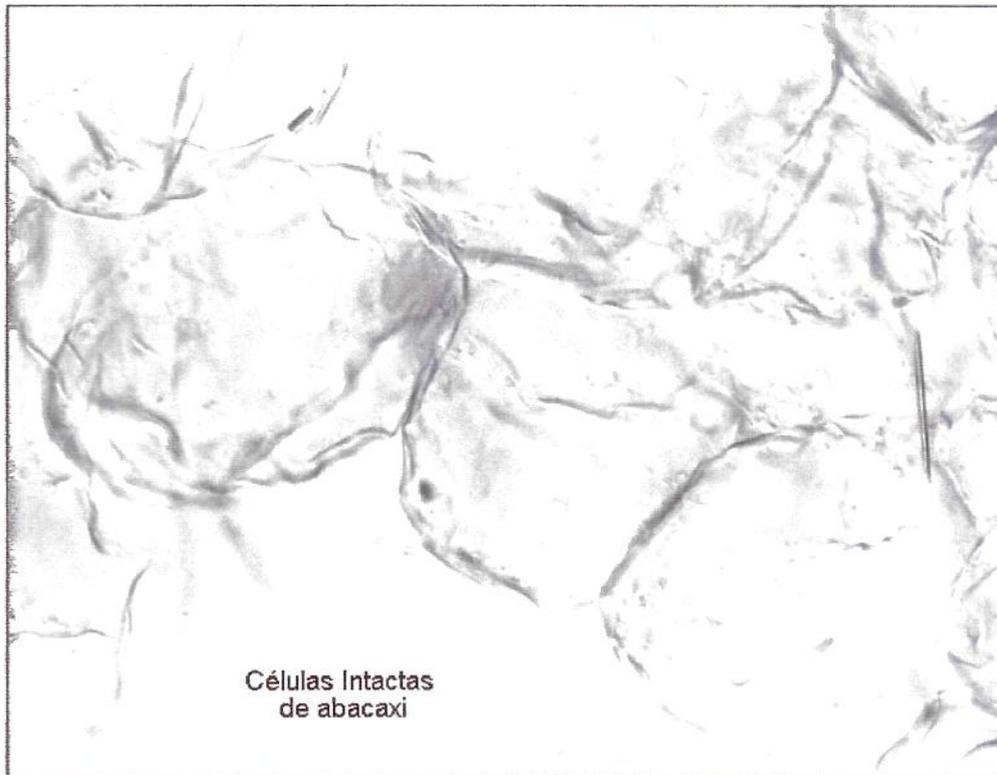


Figura 1a - Células de abacaxi antes da homogeneização. Aumento 40x.

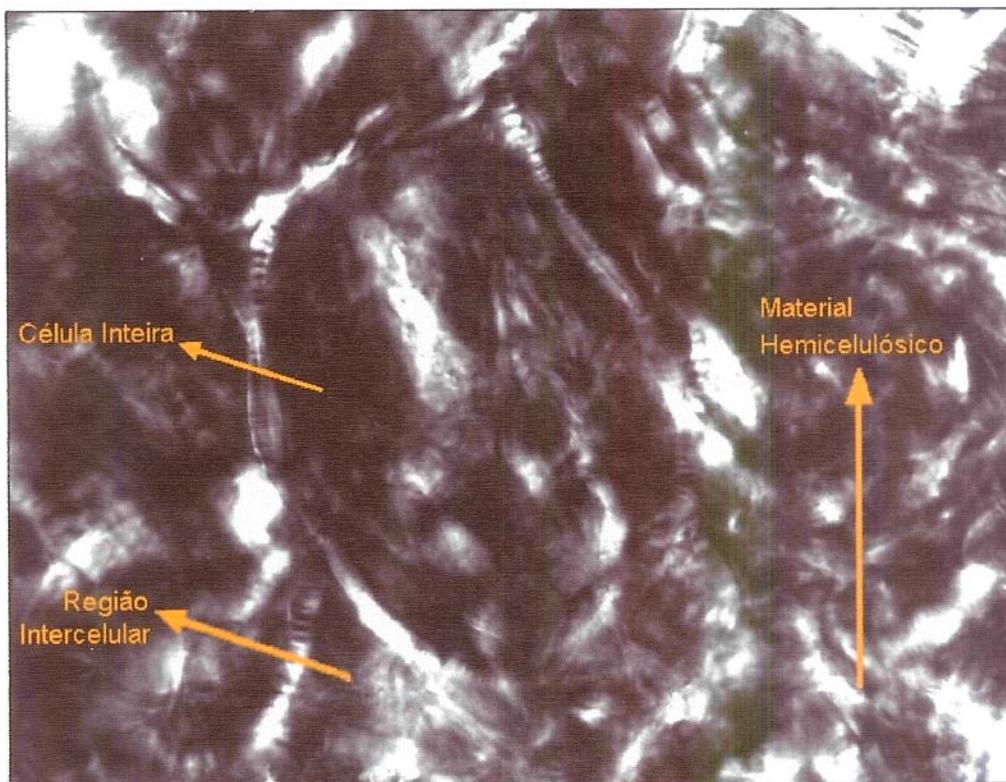


Figura 1b – Células de abacaxi antes de homogeneização sob luz polarizada

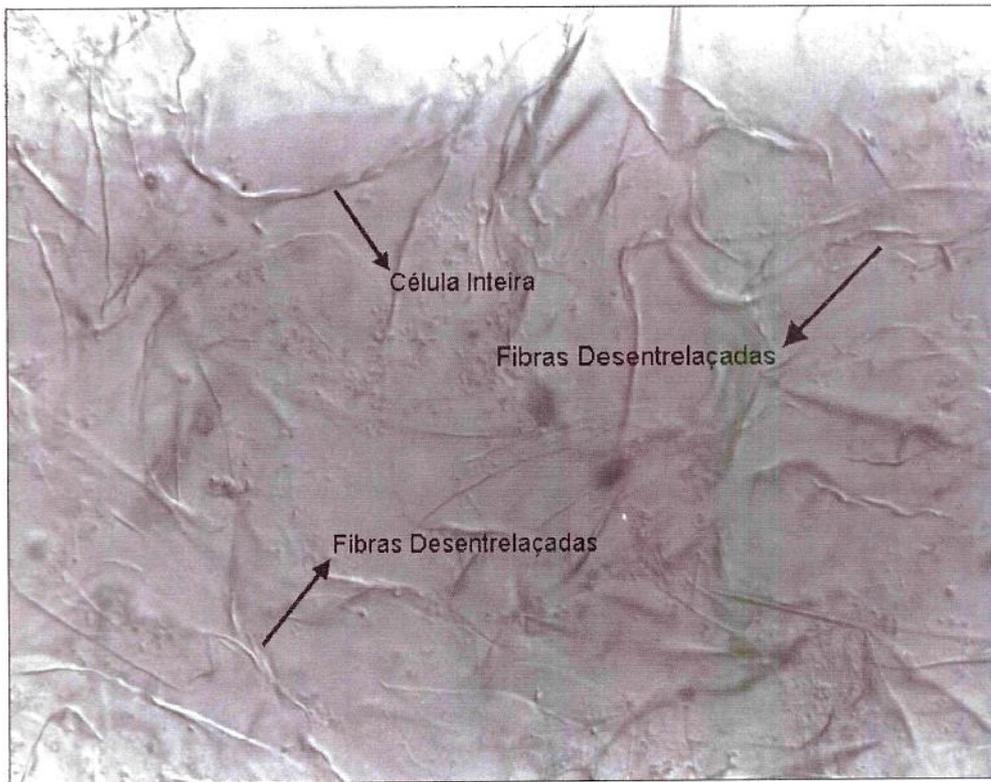


Figura 2a- Células de abacaxi após homogeneização a 6000 psi.

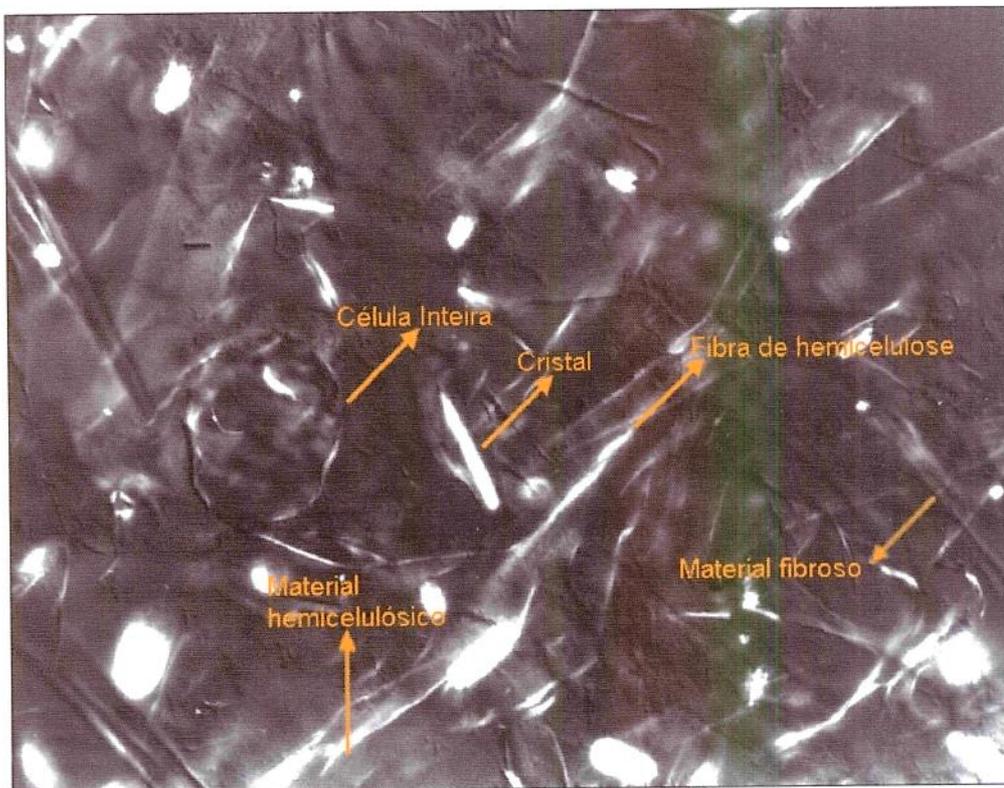


Figura 2b- Células de abacaxi após homogeneização a 6000 psi, sob luz polarizada.

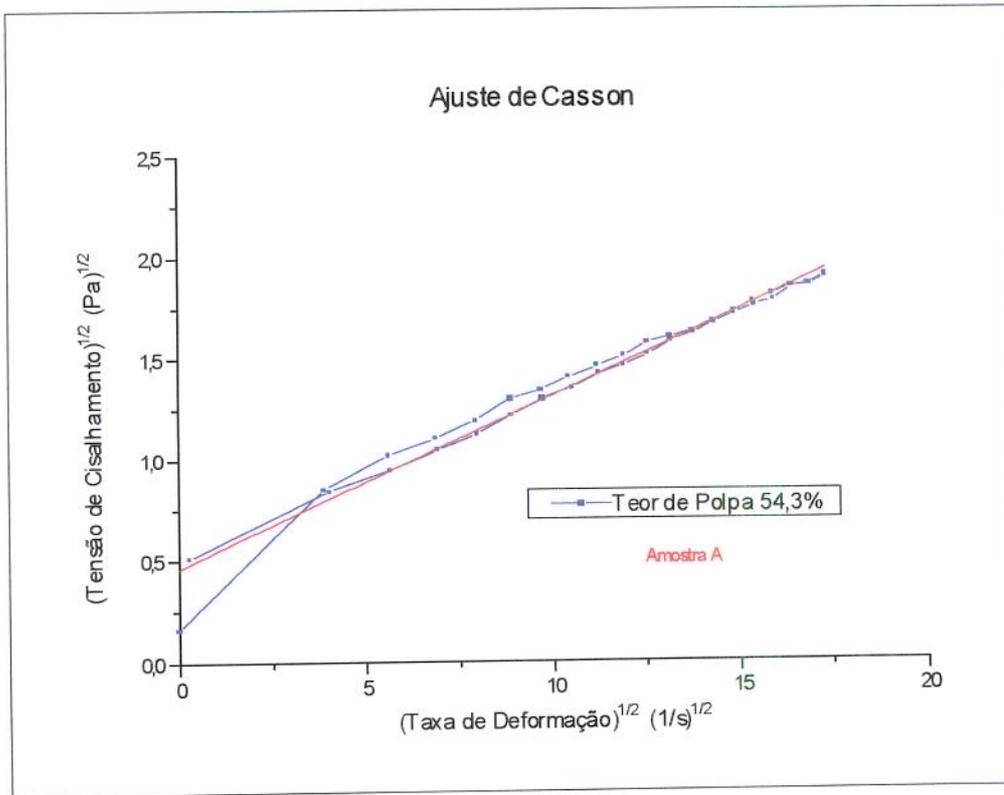


Figura 3- Juice mill homogeneizado a 6000 psi. Tensão de Cisalhamento vs T.D.

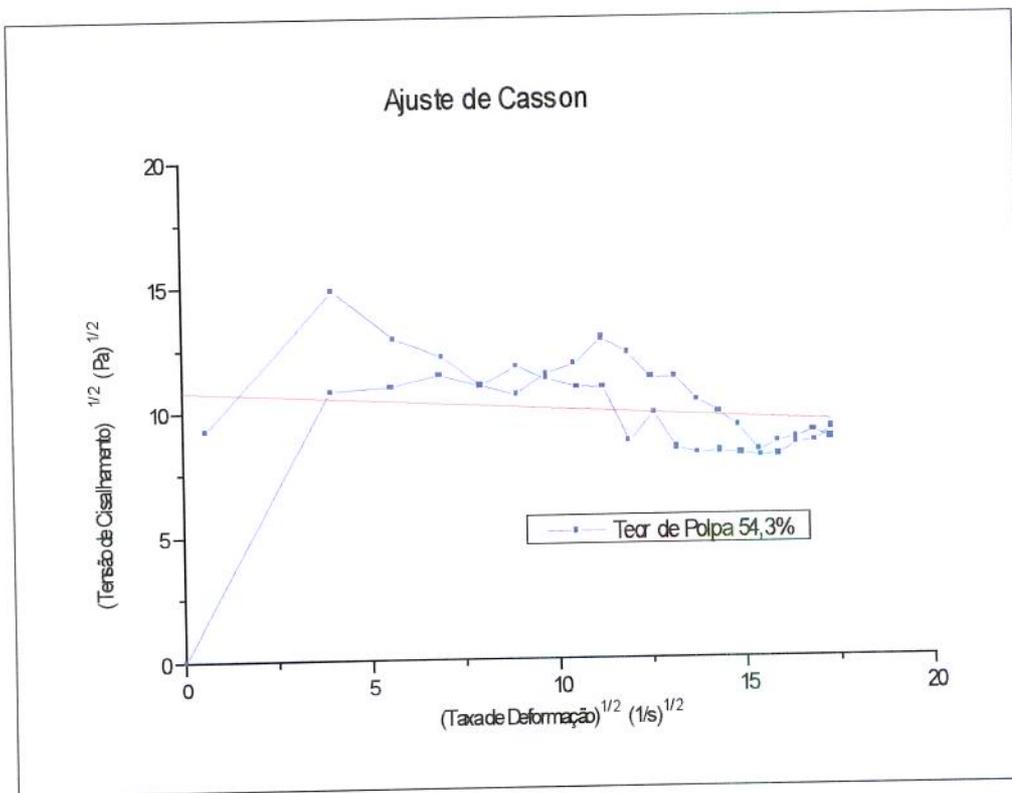


Figura 4- Juice mill controle (sem homogeneizar).

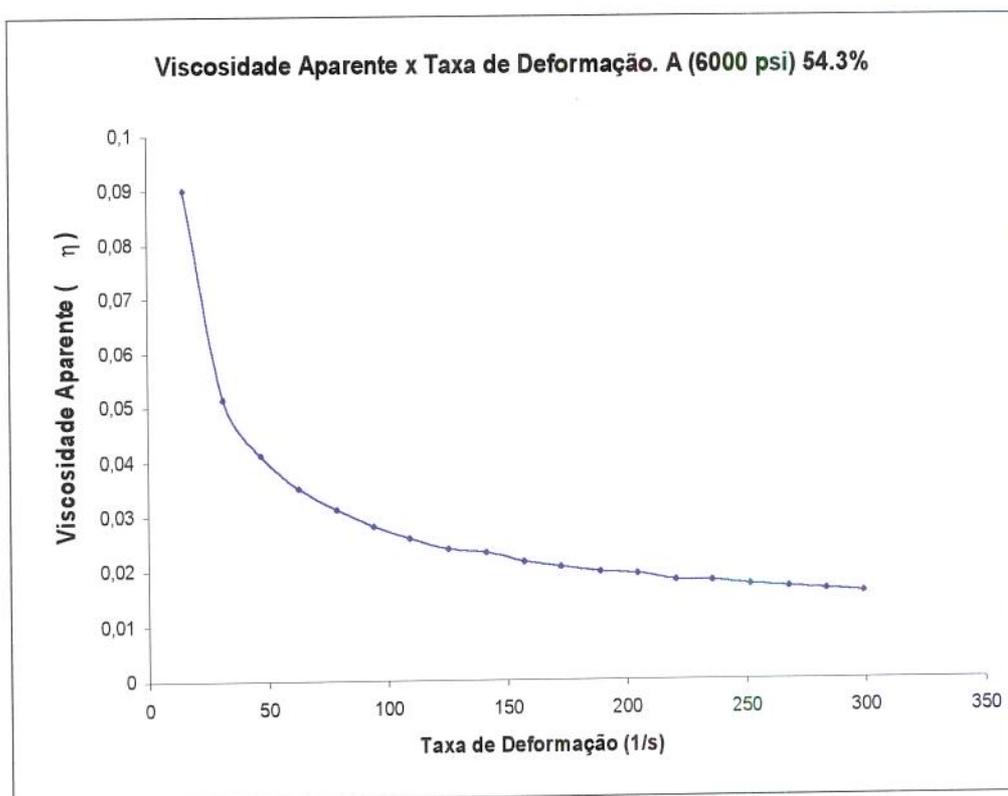


Figura 5- “mill juice” homogeneizado. Viscosidade Aparente vs T.D

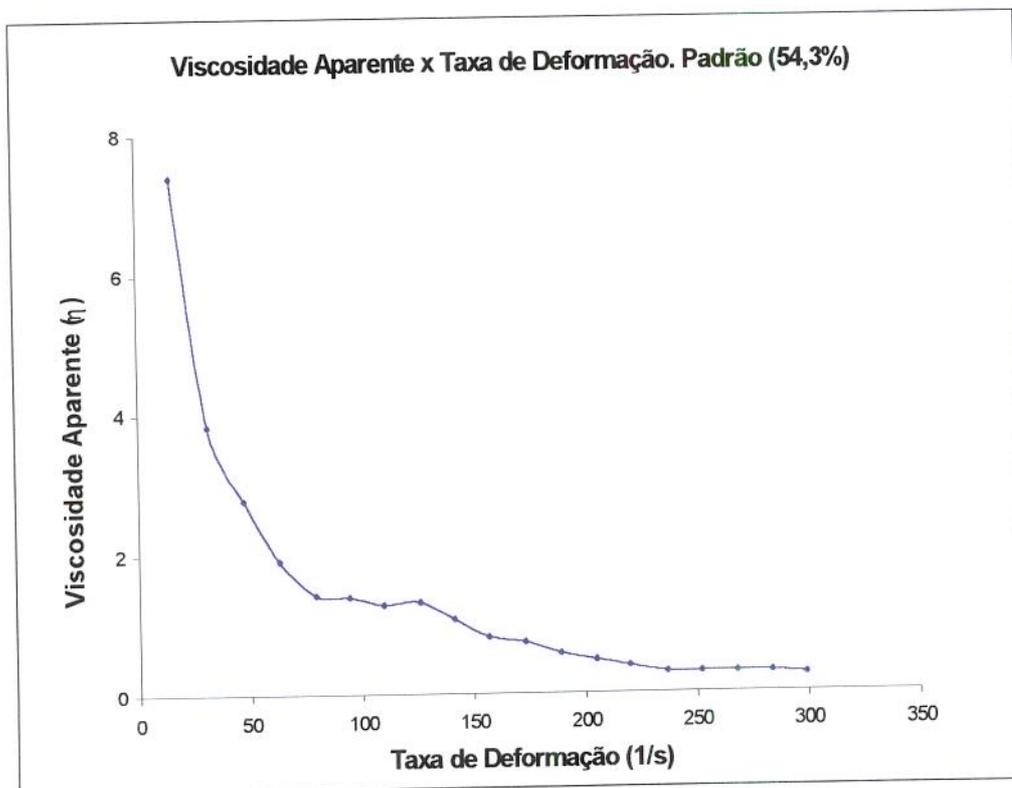


Figura 6- Juice mill controle. Viscosidade Aparente vs T.D

Tabela 1- Parâmetros reológicos após processo de homogeneização de sucos dos subprodutos de abacaxi com 54,3% de teor de polpa. Média de triplicatas

Pressão de homogeneização (psi)	Ko (Tensão Inicial) Pa ^{1/2}	Viscosidade Aparente (Pa*s)
6000	0,76	0,050
7000	0,52	0,029
8000	0,48	0,025
Controle*	10,8	2,750

* Controle (suco não homogeneizado).

A partir destes resultados apresentados na TABELA 1 foi escolhido o processamento de homogeneização a 6000 psi como o melhor dos tratamentos, em relação a estabilização do suco, apresentando maior viscosidade aparente, e os valores de Ko coincidiam com descrições qualitativas feitas observando a velocidade de sedimentação, que reportaram que as amostras homogeneizadas a 6000 psi (0,050 Pa^{1/2}) sedimentavam lentamente, em relação as homogeneizadas a (7000 e 8000 psi) (0,029 e 0,025 Pa^{1/2}) respectivamente. Por motivos de legislação que permite até 35% de teor de polpa nos sucos integrais de abacaxi, se processou um suco com teor de polpa de 34,7%. Sendo que os resultados de homogeneização a 6000 psi foram ótimos, procedeu-se a repetir a operação e as análises reológicas neste suco com teor de polpa menor. Os resultados se encontram na TABELA 2.

Tabela 2- Parâmetros reológicos. Processo de homogeneização do suco (34,7% teor de polpa) processado a 6000 psi. Média de triplicatas

Pressão de Homogeneização (psi)	Ko Tensão Inicial (Pa) ^{1/2}	Viscosidade Aparente (Pa.s)
6000	0,75	0,04
Controle	3,05	0,16

As amostras controle do suco com teor de polpa de 34,7% (K_o 3,05 Pa^{1/2}) sedimentavam mais rápido que a amostra controle do suco com teor de polpa de 54,3% (K_o 10,8 Pa^{1/2}).

Os sucos (dos subprodutos) de maior teor de polpa possuíam maior viscosidade aparente (2,75 Pa.s) do que os de menor teor (0,16 Pa*s). Em condições normais sem nenhum tipo de tratamento, a viscosidade de um suco com 54,3% de teor de polpa é 17,2 vezes maior que um suco que possui 34,7% de teor de polpa. Este dado foi obtido pela divisão do valor de viscosidade da amostra controle com teor de polpa 54,3% pela viscosidade da amostra controle com 34,7% de teor de polpa, $2,75/0,16$ (tabela 1-2). E é 1,25 (0,05/0,04) maior quando em ambos é aplicada uma pressão de 6000 psi. A diferença da viscosidade após o processo diminui 13,72 vezes sem alteração dos respectivos teores de polpa. Isto sugere que a mudança da morfologia das fibras, componente principal do suco, provocada por um processo mecânico drástico ou por outras interações desconhecidas, pode notavelmente modificar a viscosidade aparente do suco.

VITALI 1984 reportou maior viscosidade aparente em suco de laranja com maior teor de polpa em relação ao de menor teor, que coincide com nossos dados Contrariando estes resultados em relação a (teor de polpa vs viscosidade aparente). BRADDOCK, 1985 reportou maior viscosidade aparente em suco de abacaxi feito com menor teor (2%) de polpa que o que possuía maior (12-13%). Isto indica que deveriam ser feitos mais estudos do comportamento reológico do suco de abacaxi. Os sucos com 34,7% de teor de polpa que foram homogeneizados a 6000 psi, apresentaram pouca variação nos valores de viscosidade e K_o em relação aos sucos com 54,3% de teor de polpa. Isto faz pensar que altas pressões de homogeneização reduzem a influencia que o teor de polpa pode ter nas propriedades reológicas do suco (K_o , viscosidade aparente). No entanto foram encontradas diferencias significativas nos valores de K_o e viscosidade dos sucos não homogeneizados. (vide TABELA 1, 2).

O suco homogeneizado (34,7%) a 6000 psi precipitava com maior rapidez que o suco controle sem homogeneizar.

A determinação dos parâmetros precisa de equipamentos com grande sensibilidade. É muito importante ao fazer as medições no reômetro considerar as distancias entre as placas, sabendo que, quanto menor a distância entre elas, menor é a porcentagem de erro nas

determinações. Sucos controle com teor de polpa (54,3% e 34,7%) nas mesmas condições de medição não foram analisados com a mesma sensibilidade que as amostras homogeneizadas; por esta razão a distancia entre as placas paralelas do reômetro foi aumentada de 0,5 mm (utilizada para as determinações das amostras homogeneizadas) a 1.0 mm.

As figuras (11-20) apresentam o comportamento da viscosidade aparente x taxa de deformação dos sucos homogeneizados nas diferentes pressões de homogeneização e dos sucos não homogeneizados (controle). Pode-se observar que a viscosidade aparente diminui de maneira inversa a taxa de deformação em todas as amostras, e as amostras não homogeneizadas apresentam certos desvios na viscosidade próprios de uma estrutura heterogênea.

As figuras (1-10) demonstram o ajuste do modelo de Casson da raiz quadrada dos valores de tensão de cisalhamento vs taxa de deformação. Dito modelo apresenta coeficiente de correlação muito bom em relação as amostras homogeneizadas (Ver tabela 3). Os valores de coeficiente de correlação das amostras não homogeneizadas são baixos. As figuras 9 e 10 demonstram o caráter caótico destas partículas na medição no reometro. O modelo de Casson não se ajustou aos dados de viscosidade das amostras não homogeneizadas.

Tabela 3.. Média dos valores de pressão de homogeneização e K_0 com as correspondentes médias de coeficiente de correlação.

Pressão de Homogeneização (psi)	K_0 ($\text{Pa}^{1/2}$)	Coeficiente de Correlação(R^2)
6000 (54,3%) *	0,76	0,99
6000 (34,7%)	0,75	0,90
7000 (54,3%)	0,52	0,99
8000 (54,3%)	0,47	0,99
Controle (54,3%)**	10,89	0,15
Controle (34,7%)	3,05	0,20

* 54,3% e 34,7% (teores de polpa dos sucos).

** Controle (sucos não homogeneizados)

Acreditamos que é importante neste trabalho incluir os dados de K_c ($\text{Pa}\cdot\text{s}$)^{1/2} (Viscosidade Plástica de Casson) sendo que esta descreve em valores a força que deve ser aplicada em um fluido para manter-lo em movimento, ou também a resistência deste ao escoamento (Seguine 1997). Sendo o K_o (Tensão Inicial $\text{Pa}^{1/2}$) a resistência que possui todo fluido para começar a escoar, descrevemos uma relação Força/ resistência, obtendo a seguinte equação:

$$\frac{F(\text{Pa}\cdot\text{s})}{R(\text{Pa})} = s(\text{tempo})$$

Aplicando esta equação para os valores de ($K_o^{1/2}$ e $K_c^{1/2}$) obtidos das amostras homogeneizadas, podemos observar que quanto maior é o tempo (s)^{1/2} em que uma força X age em um fluido, menor será a resistência deste ao escoamento (sedimentação) (ver tabela 4). Isto também coincide com as observações qualitativas de velocidade de sedimentação onde se observou que amostras que tinham menor K_o precipitavam com maior rapidez. Foram calculados os valores de tempo (s)^{1/2} para as amostras não homogeneizadas, embora pelo baixo coeficiente de correlação destas, não incluímos comentários dos resultados nesta discussão. As amostras homogeneizadas a 6000 psi apresentaram os menores valores de tempo 0,08.(s)^{1/2} comparando com os valores obtidos das outras amostras homogeneizadas. O valor da força ($\text{Pa}\cdot\text{s}$)^{1/2} agiu em menor tempo porque a resistência deste foi maior (e sedimentou com menor rapidez que as amostras homogeneizadas a (7000 e 8000 psi) que apresentaram valores maiores (0,15 e 0,23 s)^{1/2} respectivamente, e também sedimentaram mais rápido que a amostra homogeneizada a 6000 psi.

Tabela 4- Valores das Medias dos Parâmetros de Casson. Teor de Polpa (34,7-54,3%).

Amostra	$Ko (Pa)^{1/2}$	$Kc (Pa*s)^{1/2}$	$(Kc/ko)^{1/2} (s)^{1/2}$	Coefficiente de Correlação R^2
Padrão CD (54,3%)	10,90	-0,08	Nd	0,15
Padrão CD (34,7%)	3,05	0,03	0,01	0,18
6000 psi (54,3%)	0,76	0,09	0,12	0,99
6000 psi (34,7%)	0,75	0,06	0,08	0,90
7000 psi (54,3%)	0,52	0,08	0,15	0,99
8000 psi (54,3%)	0,47	0,11	0,23	0,99

Figuras (1-10)- Ajuste de Casson. Raiz quadrada de Tensão de Cisalhamento (TC) vs Taxa de Deformação (TD)

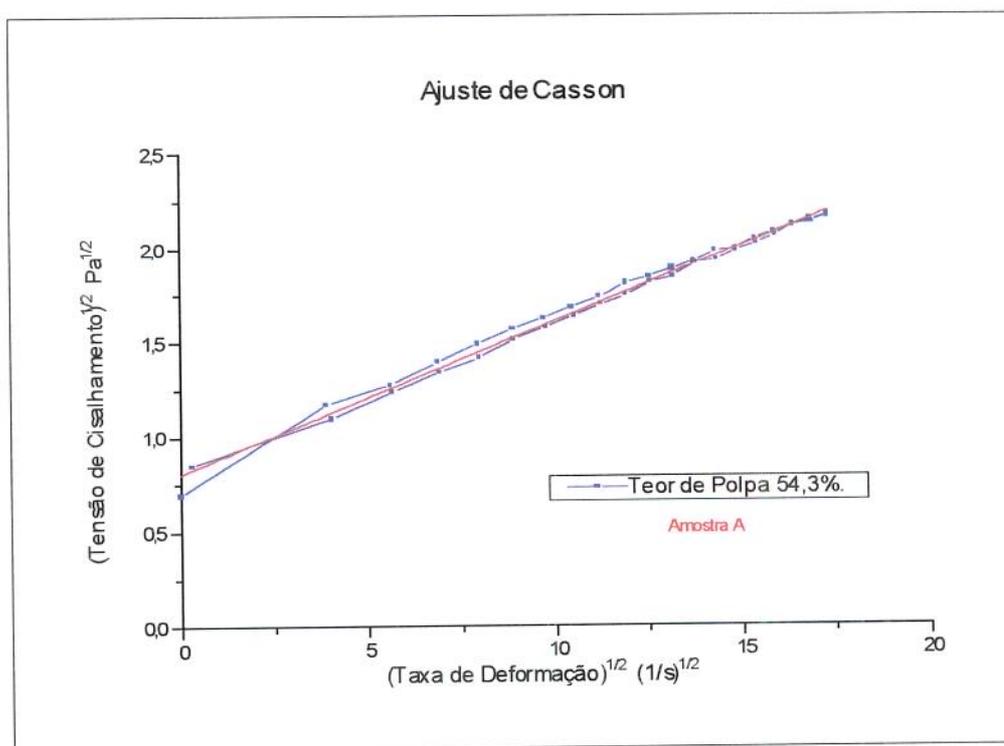


Figura 1- "Mill Juice" homogeneizado a 8000 psi. TC vs TD

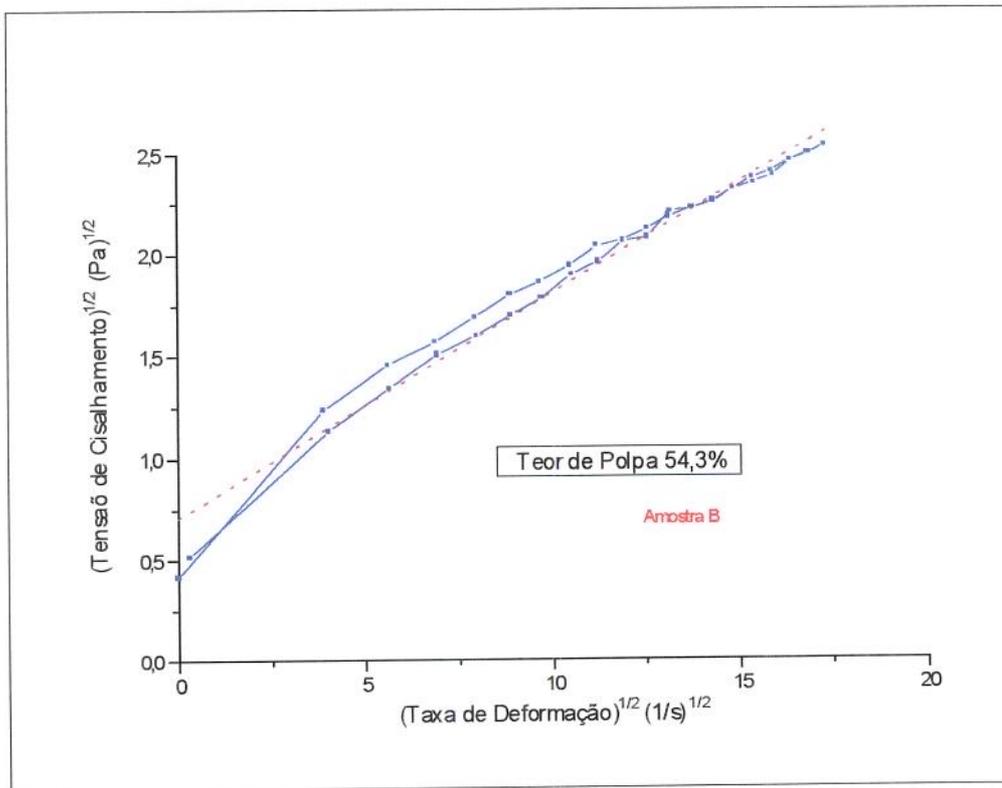


Figura 2- “Mill Juice” homogeneizado a 8000 psi. TC vs TD

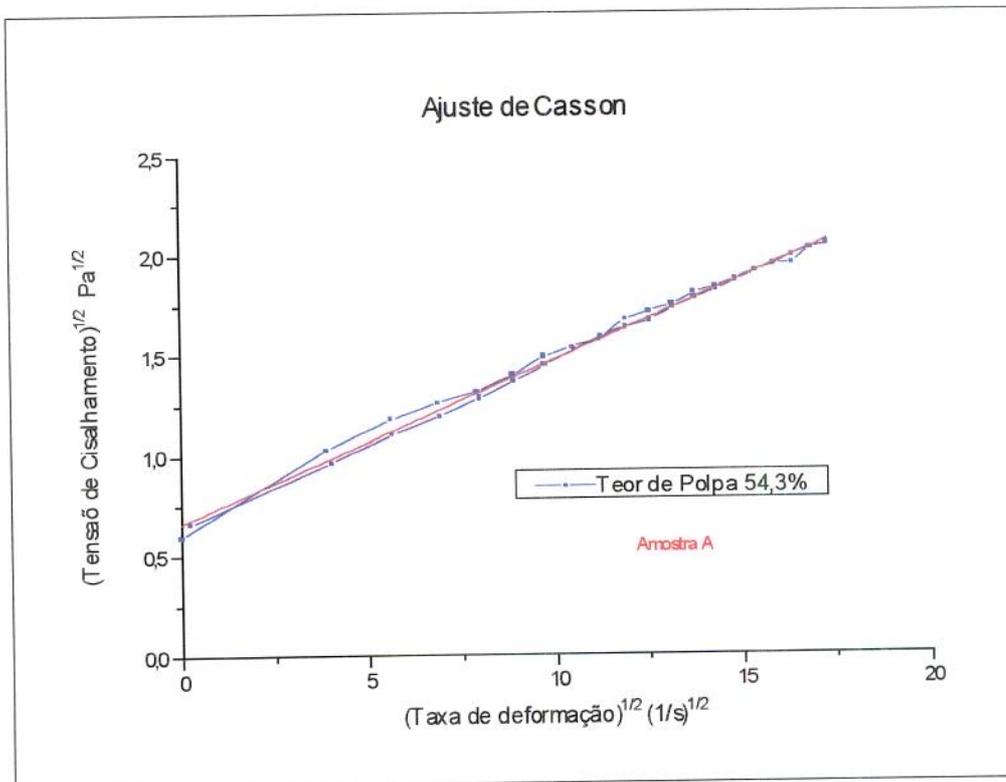


Figura 3- “Mill Juice” homogeneizado a 7000 psi. TC vs TD.

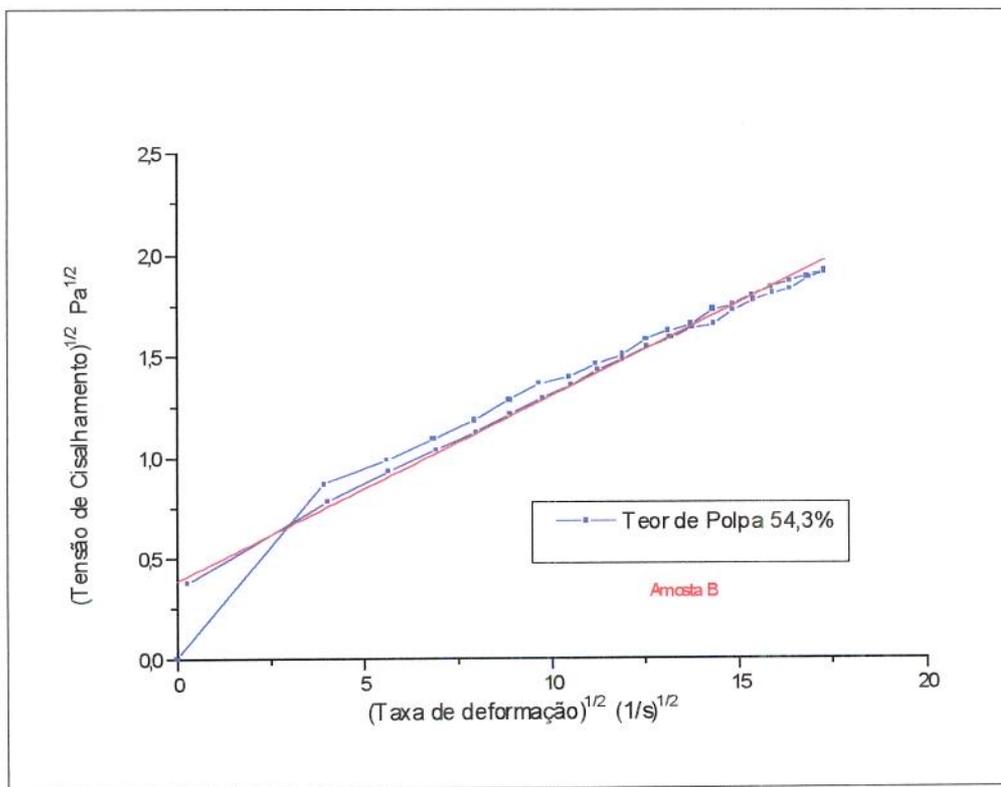


Figura 4- “Mill Juice” homogeneizado a 7000 psi. TC vs TD

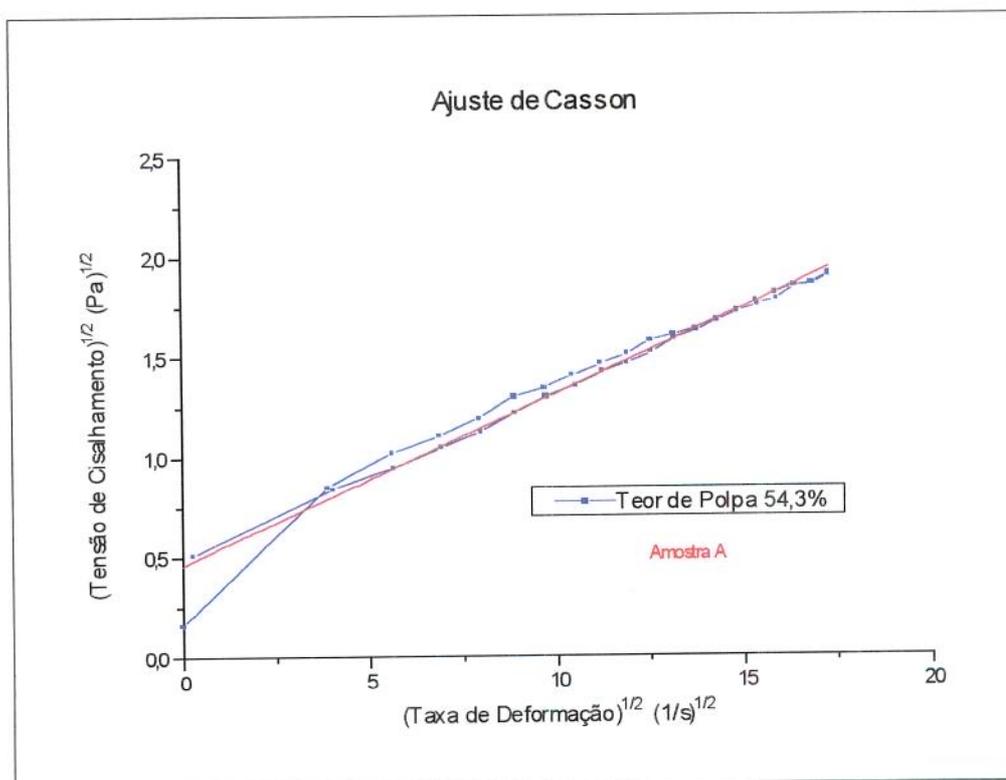


Figura 5- “Mill Juice” homogeneizado a 6000 psi. TC vs TD

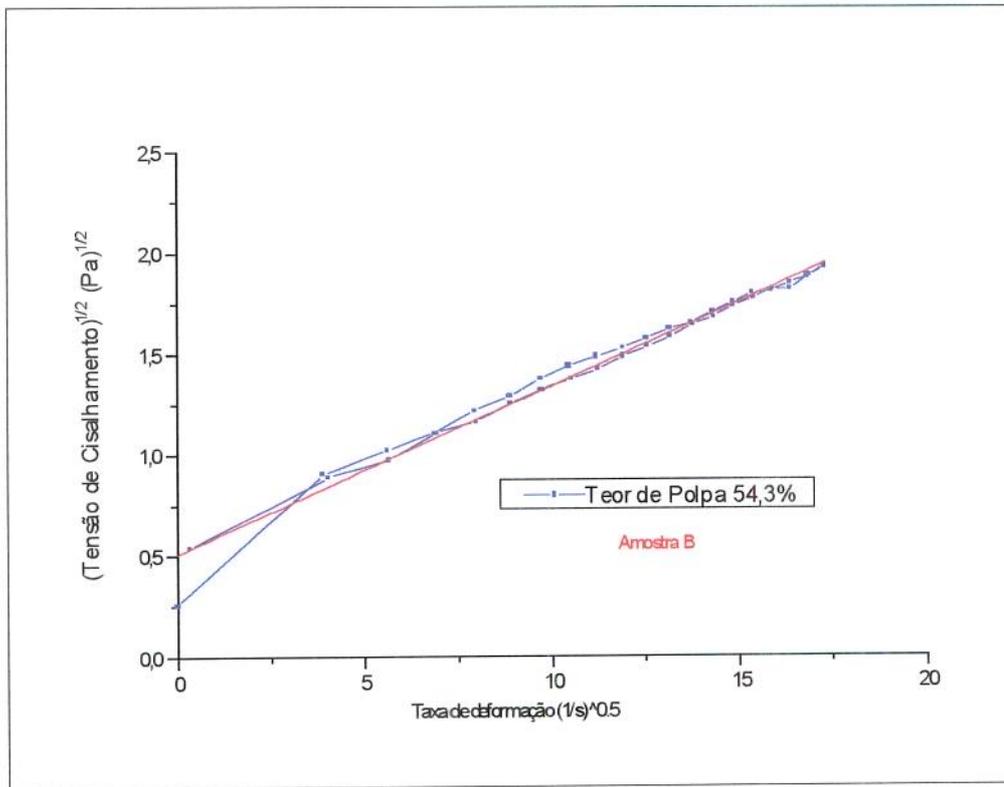


Figura 6- "Mill Juice" homogeneizado a 6000 psi. TC vs TD

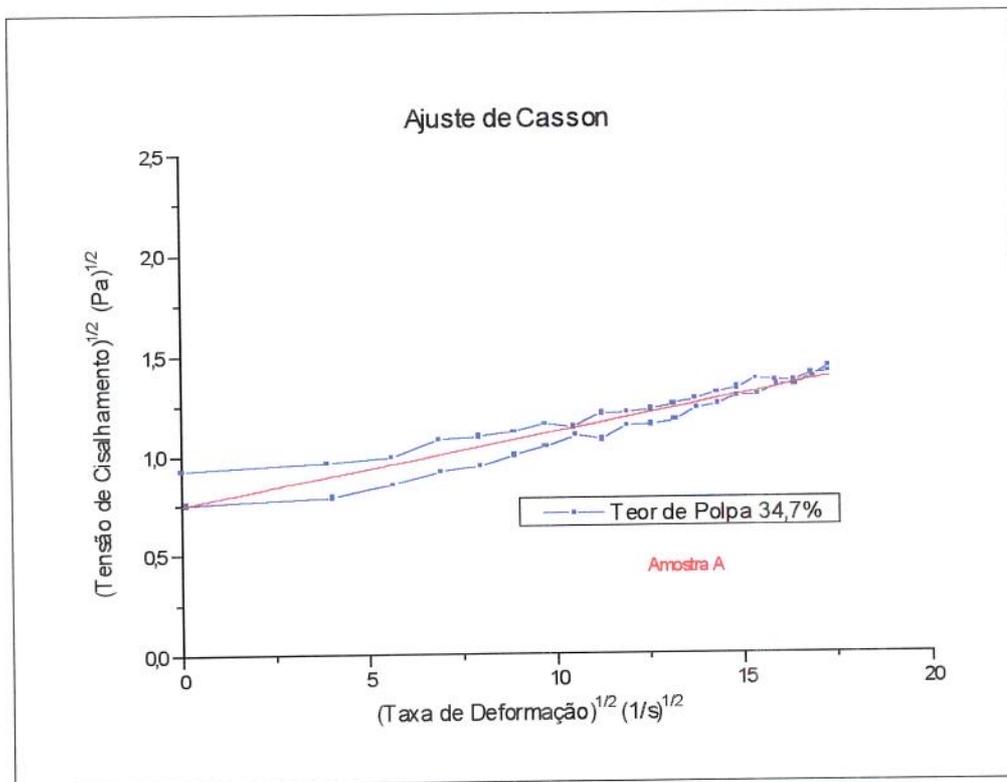


Figura 7- "Mill Juice" homogeneizado a 6000 psi. Teor de polpa (34,7%).

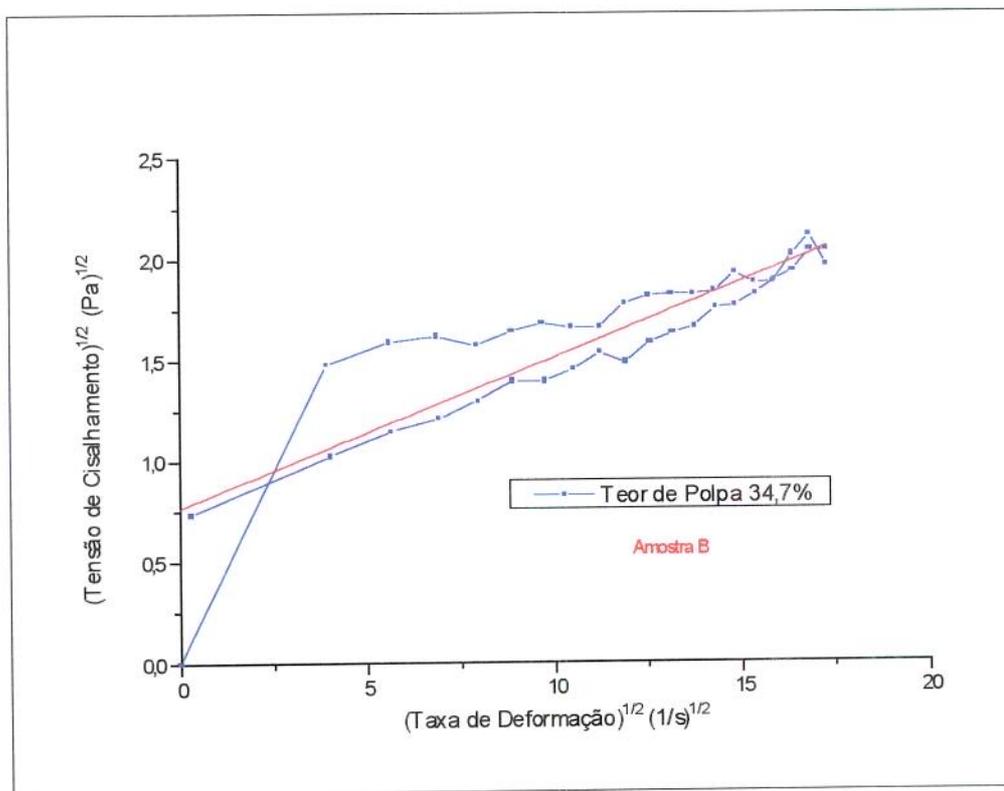


Figura 8- “Mill Juice” homogeneizado a 6000 psi. Teor de polpa (34,7%)

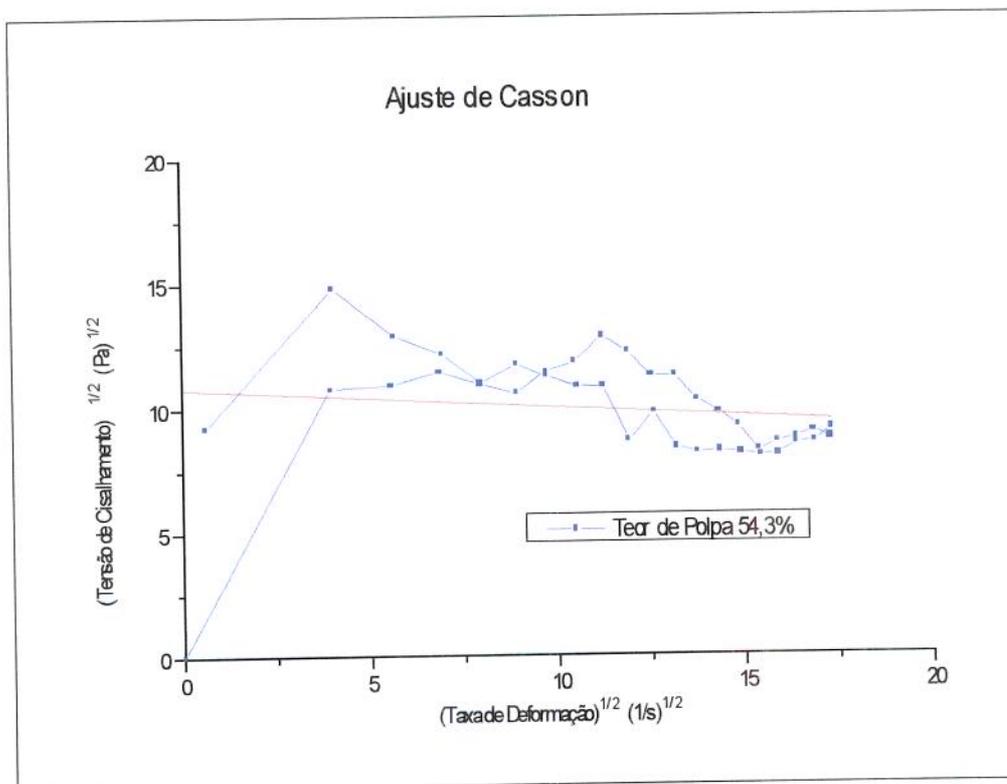


Figura 9- “Mill Juice” controle. TC vs TD. Teor de polpa 54,3%.

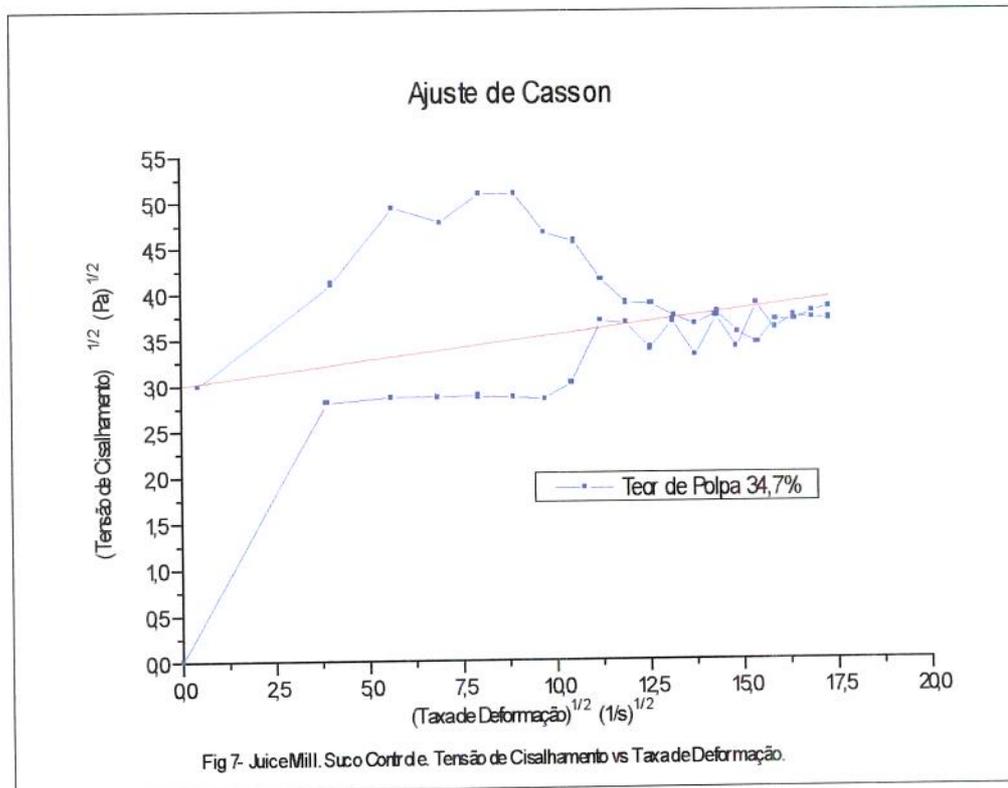


Figura 10- “Mill Juice” controle. TC vs TD. Teor de polpa 34,7%

Figuras 11-20- Viscosidade Aparente (Va) vs Taxa de Deformação (TD)

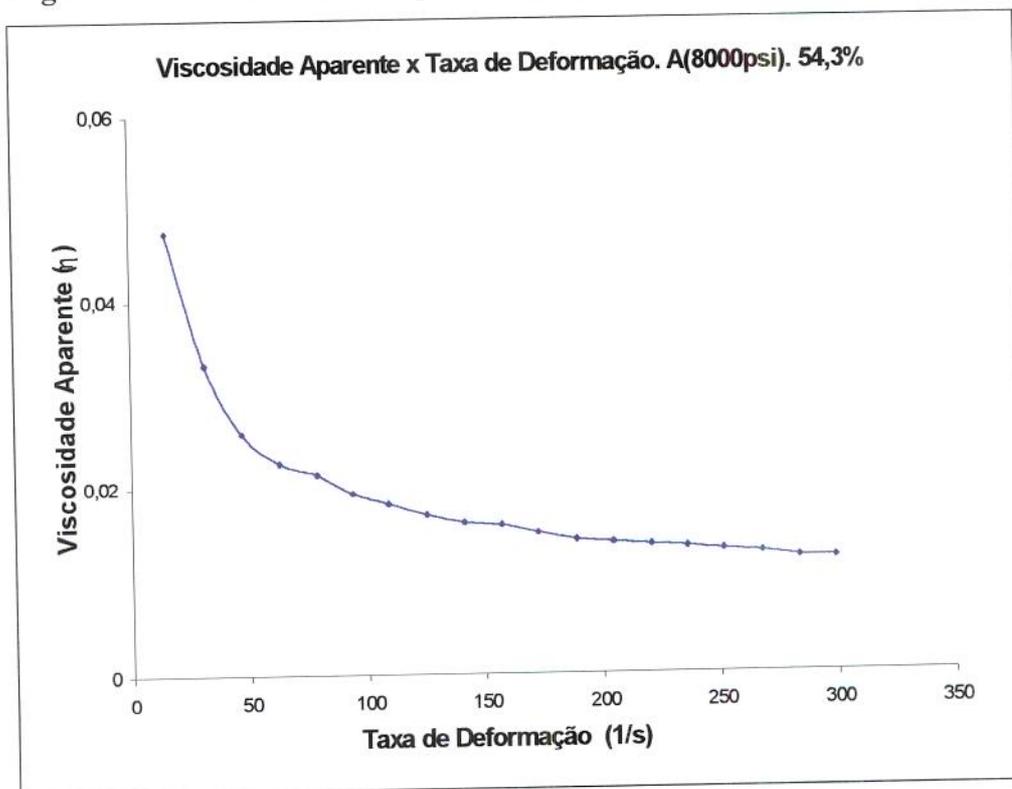


Figura 11- “Mill Juice” homogeneizado a 8000 psi. Va x TD.

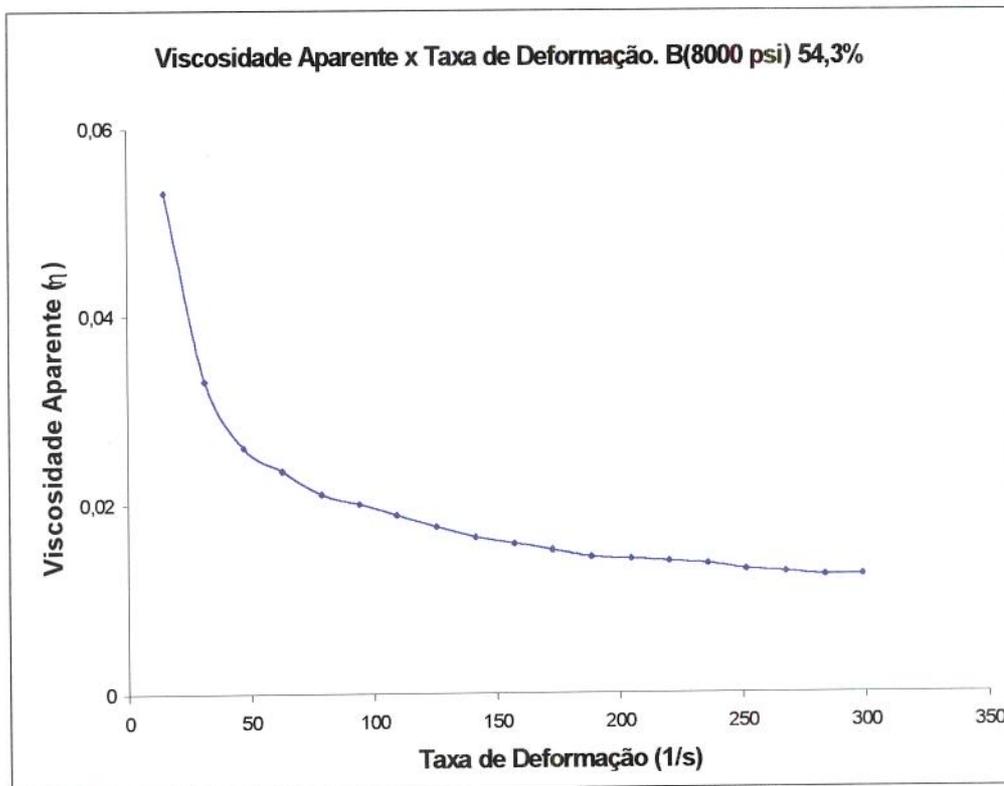


Figura 13- “Mill Juice” homogeneizado a 8000 psi. Va x TD.

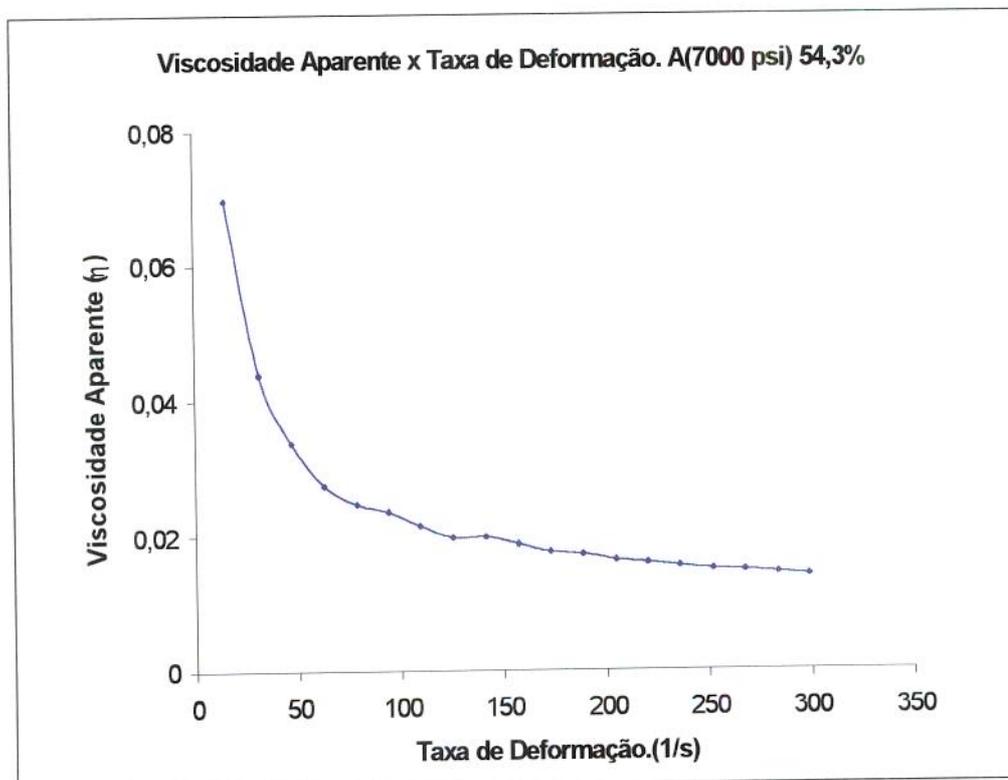


Figura 14- “Mill Juice” homogeneizado a 7000 psi. Va x TD.

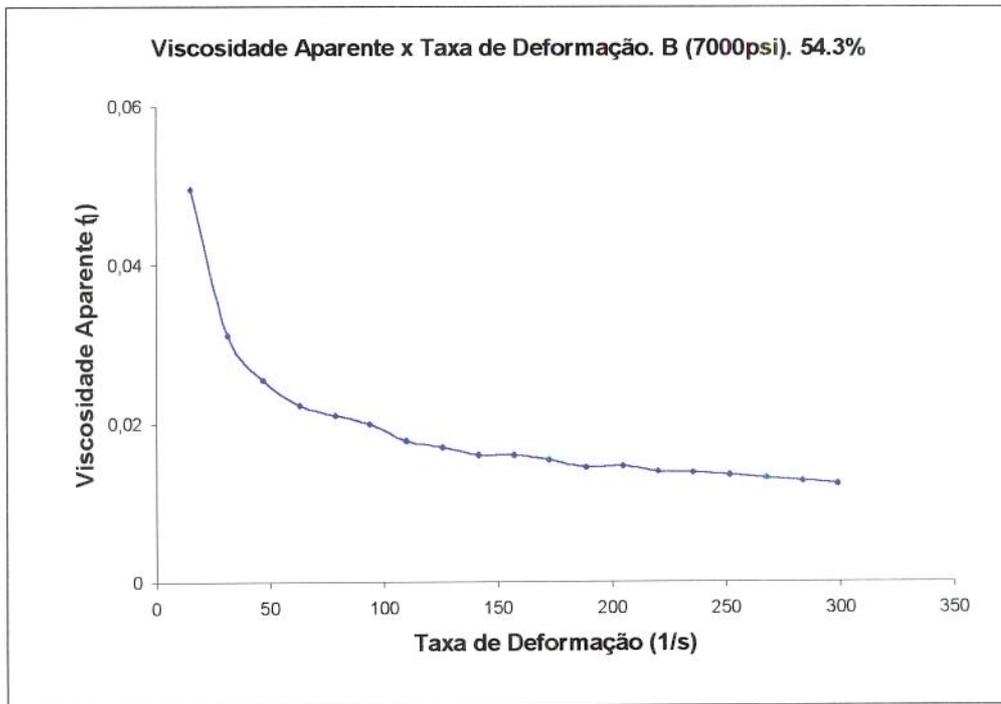


Figura 15- “Mill Juice” homogeneizado a 7000 psi. Va x TD.

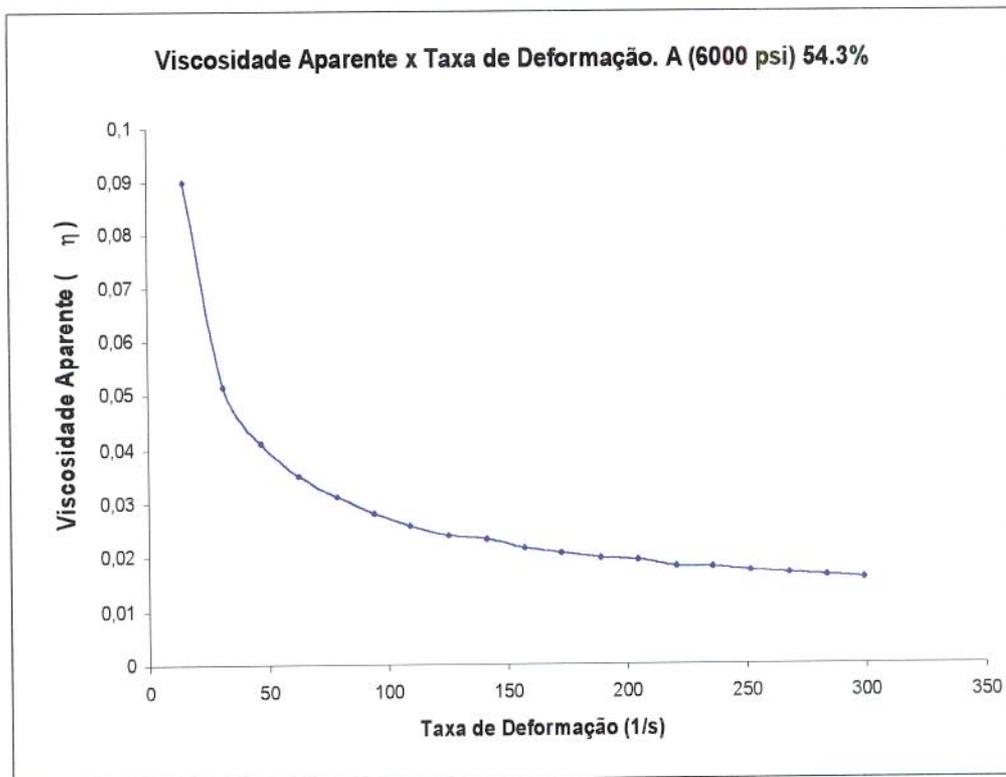


Figura 16- “Mill Juice” homogeneizado a 6000 psi. Va x TD.

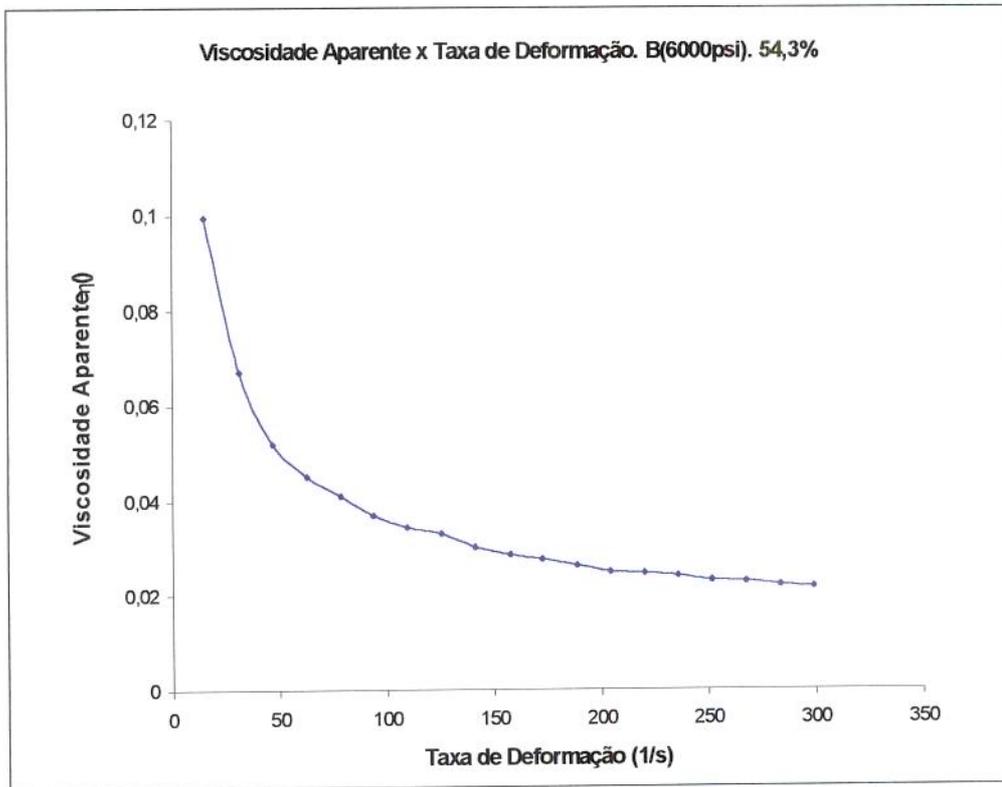


Figura 17- “Mill Juice” homogeneizado a 6000 psi. Va x TD.

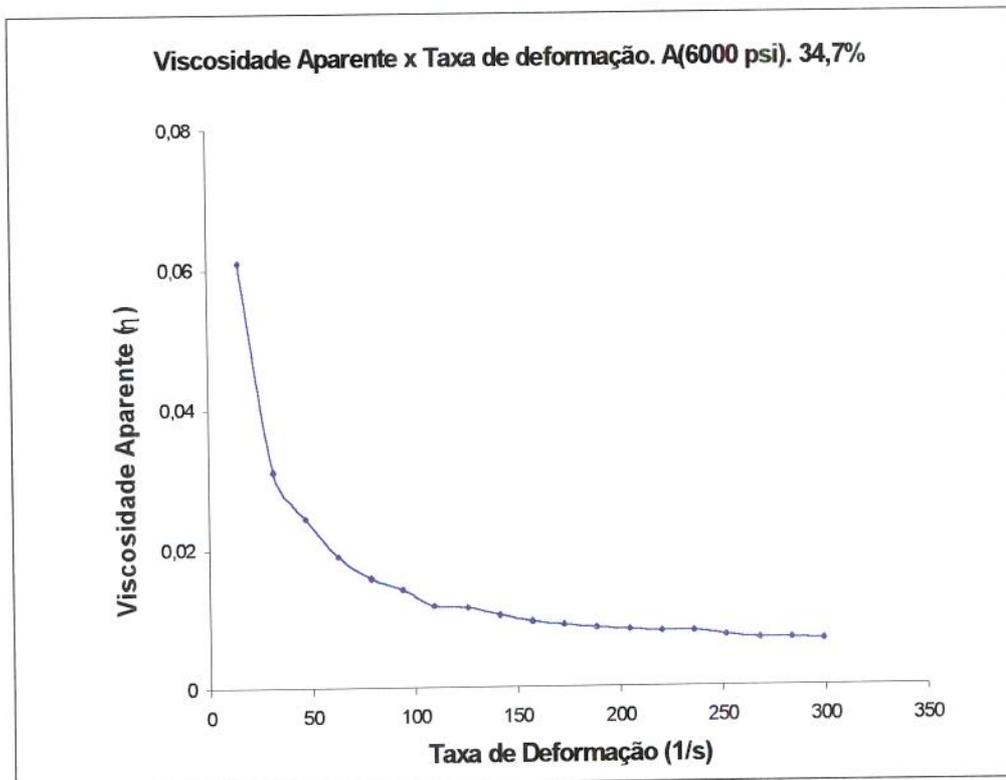


Figura 18- “Mill Juice” homogeneizado a 6000 psi. Teor de polpa 34,7%.

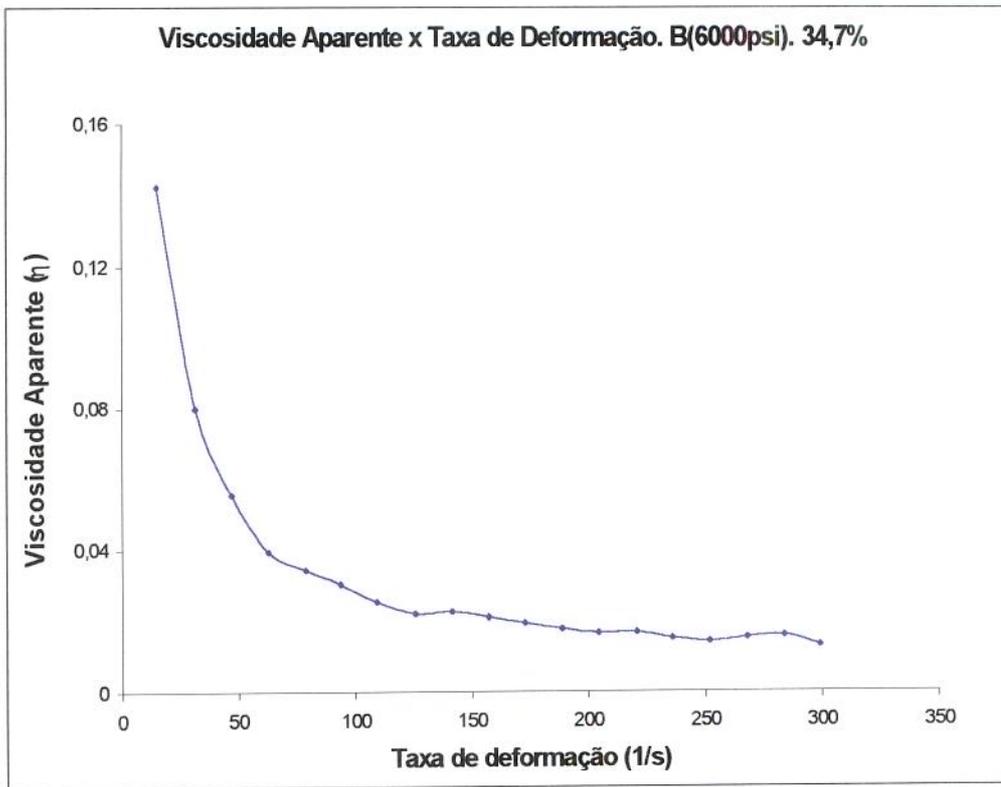


Figura 19- “Mill Juice” homogeneizado a 6000 psi. Teor de polpa 34,7%.

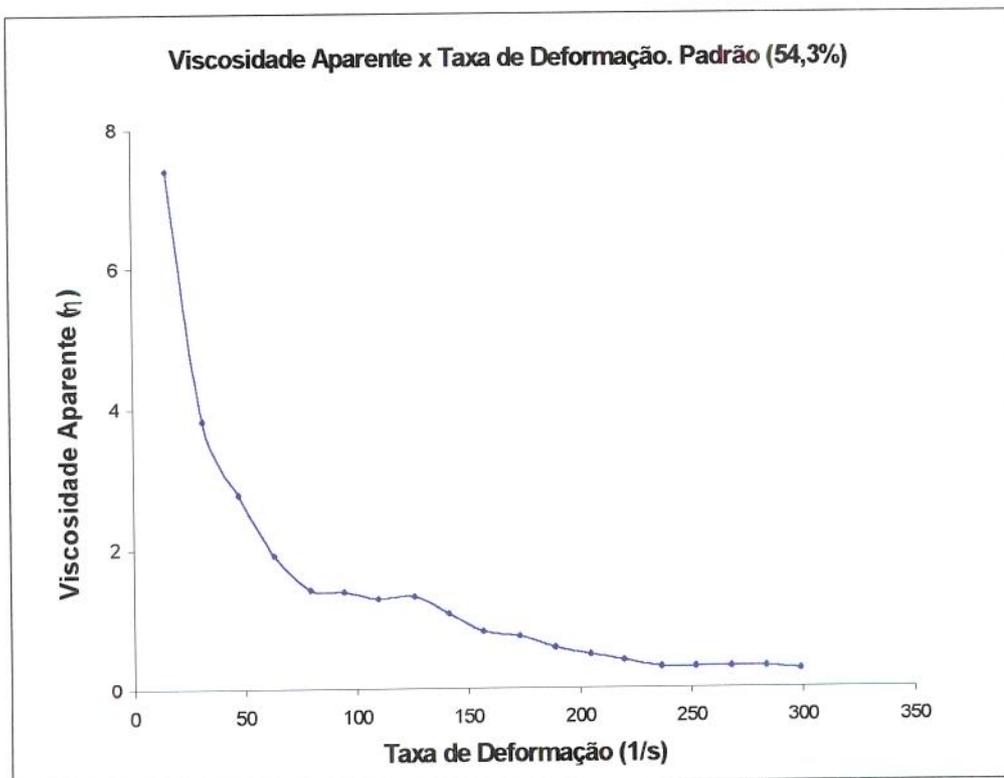


Figura 20- “Mill Juice” controle. Teor de polpa (54,3%). Va x TD.

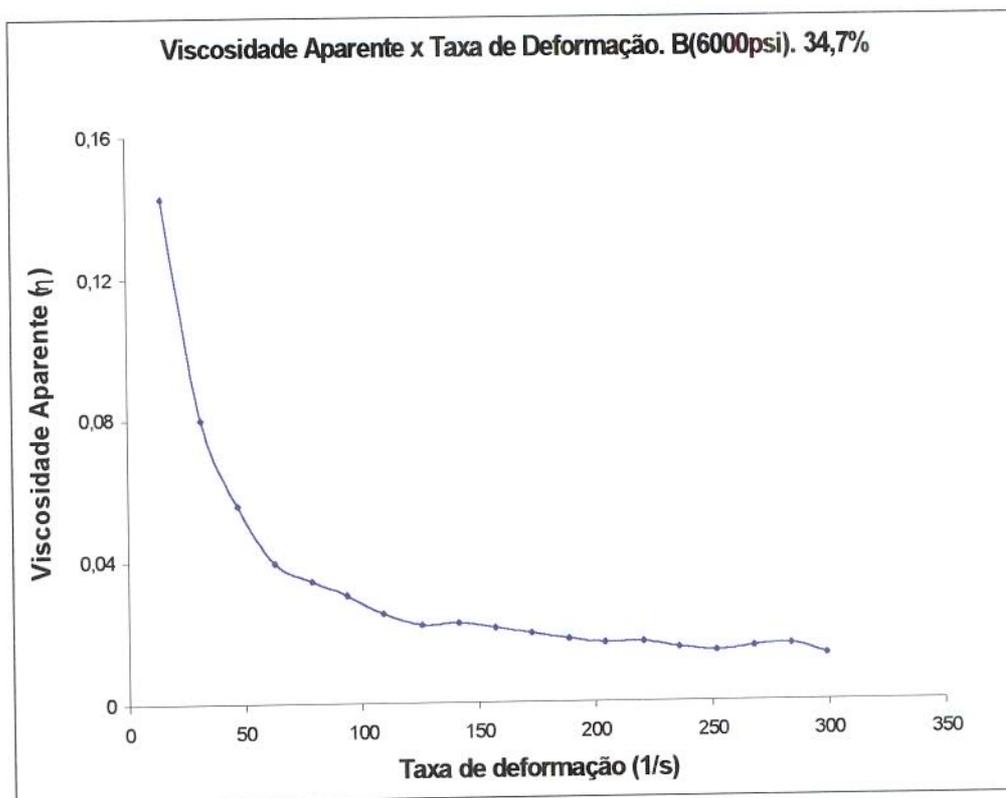


Figura 21- “Mill Juice” controle. Teor de polpa (34,7%). Va x TD.

5 CONCLUSÕES

A aparência do suco após homogeneização melhorou notavelmente. A viscosidade aparente das amostras (homogeneizadas e não homogeneizadas) é superior em sucos com maior teor de polpa em relação aos de menor teor. Todos os sucos de subprodutos de abacaxi homogeneizados e não homogeneizados sedimentam. A morfologia celular das fibras do abacaxi são modificadas (de ovóides para esticadas) após o tratamento de homogeneização. Valores de tensão maior indicam menor tendência à sedimentação que valores menores.

Não possuímos dados para concluir que maiores ou menores valores de K_o poderiam marcar uma tendência de menor ou maior sedimentação em sucos não homogeneizados, sucos com diferentes teores de polpa não homogeneizados, sucos homogeneizados a pressões menores a 5000 psi, ou em outros sucos de outras frutas com composições diferentes (baixo teor de sólidos por ex.)

Entre as limitações de aplicação desta metodologia citamos as seguintes: nem todos os fluidos apresentam valores de K_0 (Tensão inicial) só podendo ser aplicada em fluidos que possuem abundantes sólidos em suspensão e de estrutura bastante homogênea.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APV- GAULIN- Proccesing Report. 1982. Manton- Gaulin Manufacturing Co., INC.
- ASKAR, A; TREPTON, H. Cloud stable premium nectars made from tropical fruits. Confructa Studien , v.36 n.5, p. 24-25, 1992.
- BRADDOCK, R., Food Scientist, University of Florida, private communication.
- BRADDOCK, R.J., MARCY, J.E., Freeze Concentration of Pineapple Juice, Journal of Food Science v. 50, p.1636-1639, 1985.
- CRANDALL, P.G., DAVIS, K.C., Viscosity reduction and reformation of Structure in Orange Concentrate as affected by Homogenization within Commercial Taste Evaporators, Journal of food Science v. 50, n. 5, p. 1360-1364, 1991.
- GRANDI, G.J., TEIXEIRA, C.P. Homogeneização de sucos industrializados de maracujá e abacaxi. Bol. S.B.C.T.A, Campinas, v. 20, p. 48-54, 1986.
- LARRAURI, J.A., RUPEREZ, P., CALIXTO, F.S., Pineapple shell as a source od dietary fiber with associated polyphenols J. Agric. Food Chem. v. 45, n. 10, p. 4028- 4031, 1997.
- O'DONELL, C., BERNE, S., Estabilizantes y Homogeneizadores, Alimentos Procesados v. 16, n. 5, 1997
- ROY, A.K., JOSHI, S., NATH, N., Effects of Homogenization on Sensory Quality and Rheological Characteristics of pulp and Beverages from Ripe 'Dushehary' Mangoes J. Food Sci. Technol., v.34, n.3, p. 212-217, 1997.
- SCHRAMM, G. Instruction Manual, Rotovisco RV20, Sensor System CV20 (HAAKE). Germany. p.26-27, 1990.
- STOFOROS, N.G., REID, D.S., Factors influencing serum separation of tomato Ketchup, Journal of Food Science v.57, n. 3, p. 707-713, 1992.
- VIDAL, R.M., Estudo reológico do suco de manga. Efeito dos sólidos insolúveis. Campinas, 1997. 81p. Tese: (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas.

VIDAL, V.C., HERRANZ, J., BLANCO, I., ROJAS, H.E., Dietary fiber in spanish fruits, J. Food Sci. v. 47, p. 1840-1845, 1982.

VITALI, A.A., RAO, M.A., Flow properties of low-pulp concentrated orange juice: serum viscosity and effect of pulp content Journal of Food Science, v. 49, p. 876-871, 1984.

CAPÍTULO 7 –

INFLUENCIA DA GOMA NATIVA DE ABACAXI SOBRE AS PROPRIEDADES REOLÓGICAS E A ESTABILIZAÇÃO DO SUCO DOS SUBPRODUTOS DE ABACAXI (*SMOOTH CAYENNE*)

1 RESUMO

As gomas são definidas como materiais poliméricos, que podem ser dissolvidos na água produzindo um efeito espessante. A goma nativa do abacaxi presente tanto na polpa como no suco feito dos subprodutos, é um polímero neutro formado principalmente por manose e galactose numa proporção de 2,25:1. Neste trabalho foi estudado o efeito das gomas nativas do abacaxi, sobre a estabilização e propriedades reológicas do suco (35% de teor de polpa). Foi utilizada uma enzima pura (hemicelulase) de nome comercial gamanase (Novo Nordisk) em concentrações de (0,75, 0,38, 0,3 e 0,03%) para hidrolisar a goma nativa presente no suco dos subprodutos de abacaxi. As condições da hidrólise de tempo e temperatura foram 70°C/1h e o pH do suco foi de 3,5. Foi utilizado o reometro de Haake para fazer as determinações dos parâmetros reológicos. Para fazer as interpretações e ajuste no (software origin 3.5) dos parâmetros reológicos, foi empregado a equação do modelo de casson. Para avaliar as tendências de sedimentação do suco após tratamento enzimático, foram comparados os valores quantitativos de K_0 (Tensão inicial) $(Pa)^{1/2}$, com observações qualitativas de sedimentação em tubos de ensaio. Todas as amostras hidrolizadas e controle sedimentaram. As amostras que apresentaram maiores valores de K_0 foram hidrolizadas com concentrações maiores de enzima e sedimentaram mais rápido em relação as de menor concentração. Os valores de K_0 encontrados foram (2,6, 2,08 1,09 0,8 $Pa)^{1/2}$, na ordem correspondente as concentrações de enzima utilizadas para a hidrólise (0,75, 0,38, 0,3 e 0,03%). As mesmas tendências foram encontradas quando se determinou a viscosidade aparente $(Pa*s)$ que diminuiu em todas as amostras após hidrólise. Foram comparados os valores de viscosidade aparente das amostras hidrolizadas com as das amostras homogeneizadas a (6000, 7000, 8000 psi) em um homogeneizador Gaulin de Dupla Pistão Tipo 15M, 8TA SMD. A viscosidade plástica $(Pa*s)^{1/2}$ nas amostras controle mudou muito pouco em relação as amostras hidrolizadas. Amostras hidrolizadas com (0,3 - 0,03%) de enzima tinham a mesma viscosidade plástica.

2 INTRODUÇÃO

O abacaxi (polpa e subprodutos) é rico em hemiceluloses que estão compostas principalmente de xilose, arabinose, glucose, galactose, manose e ácido urônico. As hemiceluloses são descritas como um grupo heterogêneo de polissacarídeos (glucomananos, galactomananos, xilanos etc) que contém diferentes tipos de açúcar (hexoses, pentoses) e em alguns casos ácidos urônicos (BARTOLOME, 1995; CHAN, 1977). A goma de abacaxi é um polímero formado principalmente por manose e galactose numa relação de 2,25:1. A sua estrutura assemelha-se à da goma guar e a sua funcionalidade às gomas tragacanto e "locust bean", todas estas do grupo dos galactomananos (CHENCHIN *et al* 1978).

As gomas são definidas como materiais poliméricos que podem ser dissolvidos na água produzindo um efeito espessante. A goma presente no suco de abacaxi é solúvel em água fria, é branca, flocosa, higroscópica, contém 79-92% de açúcares, 7-12% de umidade, 1,5% de proteína, 1,5-3,7% de cinzas e 0,5% de compostos fenólicos.

Propriedades inerentes no suco de abacaxi como viscosidade, capacidade de formação de espuma e capacidade de retenção de polpa, são atribuídos a presença da goma nativa do abacaxi (CHENCHIN *et al* 1984). Tem se observado a importância desta goma por sua grande capacidade de retenção de água, pela formação de soluções viscosas ainda que dispersões bem diluídas; é muito significativo a eliminação desta goma para otimizar processos de clarificação e filtração (JANSER, 1997).

Uma das propriedades da goma de abacaxi é o caráter neutro do polímero que mantém uma viscosidade constante na faixa de pH de 3-9, isto poderia ser importante na aplicação da goma em alguns produtos. A hidrólise enzimática parece ser um método eficaz para tirar a goma do abacaxi e deste modo avaliar o efeito que tem a goma nativa na sedimentação dos sólidos suspensos, assim como nas propriedades reológicas do suco. Isto teria um efeito sobre a viscosidade, sólidos em suspensão e estabilidade da turbidez uma vez que a enzima rompe a rede do polímero, alterando as suas propriedades funcionais. As hemicelulases comerciais de forma similar as nativas são enzimas que rompem as cadeias poliméricas dos galactomananos, diminuindo a viscosidade aparente e a turbidez do suco (DOKO, 1991; CHENCHIN, 1984).

Para a produção de sucos integrais onde a presença de sólidos em suspensão é desejável, a presença desta goma é importante e requer-se, para evitar a sua hidrólise, de

tratamentos térmicos que inativem enzimas hemicelulases nativas. Pelo tanto torna-se necessário para a execução deste trabalho inativar as hemicelulases nativas do suco para posteriormente adicionar hemicelulase endógena comercial.

Para calcular as tendências dos sucos à sedimentar foi utilizado a Tensão inicial (K_0) parâmetro de ajuste incluído na equação do modelo de Casson. O ($K_0 \text{ Pa}^{1/2}$) e a resistência que possui todo fluido para começar a escoar.

Este parâmetro junto com ($K_c \text{ Pa}\cdot\text{s}$) são muito utilizados para avaliar as propriedades reológicas do chocolate e fluidos com muitos sólidos em suspensão SEGUINE, 1985

Neste trabalho, tratando-se do estudo dos parâmetros reológicos de um suco com grande teor de polpa (35%), foi utilizado o parâmetro (K_0) do modelo de Casson. A sedimentação foi avaliada após ter sido hidrolisada a goma nativa presente no suco.

O objetivo deste trabalho foi destacar a importância real da goma nativa do abacaxi na incidência de sedimentação da polpa em suspensão e na viscosidade aparente do suco dos subprodutos de abacaxi.

3 MATERIAL E MÉTODOS.

3.1 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Suco de "mill juice" com 35% de teor de polpa (resíduos: cascas, miolo, extremidades) foi obtido em planta piloto e mantido a temperaturas de refrigeração entre (3-7°C). As hemicelulases nativas do suco foram inativadas após extração, submetendo o suco a temperatura de 85°C/3min em um tacho aberto, que em seguida foi pasteurizado dentro de latas (85°C/30min) em um tanque com água esquentada a vapor.

3.1.1 TRATAMENTO ENZIMÁTICO

Para hidrolisar a goma de abacaxi foi utilizada uma enzima hemicelulase pura de nome comercial gamanase 1.0 L (Novo-Nordisk). Foram utilizadas concentrações de (0,75%, 0,39%, 0,3% e 0,03%) da enzima a 70°C /1h. O pH do suco foi de 3,5. Foi utilizado uma amostra controle. A enzima foi utilizada pura para evitar hidrólise de outros componentes celulares do abacaxi, como proteínas, pectinas, celulasas (etc). A enzima gamanase é específica para hidrolisar galactomananos (NOVO, 1996). Enzimas comerciais são

geralmente misturas de enzimas pectinolíticas, celulases e hemicelulases (SREENATH *et al.*, 1994; SREENATH *et al.*, 1987; CHENCHIN, 1978).

3.1.2 EQUIPAMENTO

O equipamento para analisar os efeitos da hidrólise enzimática nas propriedades reológicas da goma (K_o , K_c , viscosidade aparente), foi o Viscosímetro de Haake rotavapor R-20 com sistema de medida ZA 30, as distâncias entre as placas paralelas sendo de 1mm. Todas as amostras (hidrolizadas e controle) foram mantidas 1 hora no banho controlado termostaticamente a $20 \pm 0.1^\circ\text{C}$ antes das análises. O tempo de corrida foi de 4 minutos, completando um total de 40 pontos analisados, sendo 2 minutos para as faixas de velocidade de rotação crescentes e 2 minutos para as faixas decrescentes. Todas as medições foram feitas em triplicatas e os 2 valores mais próximos de K_o obtidos foram reportados para a discussão.

Os parâmetros analisados quantitativamente foram viscosidade aparente (η), viscosidade plástica de casson K_c (η)^{1/2} e tensão inicial (K_o)^{1/2}. Foi realizado uma análise qualitativa que consistia em observar a sedimentação dos sucos com as diferentes concentrações de enzimas (0,75%, 0,39%, 0,3%, 0,03%) e estes comparados com o controle (sem adição de enzima). Para efeito da homogeneização foi utilizado um homogeneizador Gaulin de Dupla Pistão Tipo 15M, 8TA SMD.

TENSÃO INICIAL (K_o)^{1/2}

O parâmetro K_o (Tensão inicial Pa^{1/2}) é um valor obtido após a regressão linear dos dados de tensão de cisalhamento e taxa de deformação medidos no reomêtro de Haake rotavapor RV-20. Para fazer o ajuste foi utilizado a equação do modelo de Casson que como todo modelo reológico, descreve o comportamento em uma determinada condição dos parâmetros reológicos do fluido (MIZRAHI, 1975).

Equação de Casson:

$$\tau^{1/2} = \underline{K_o} + K_c \gamma^{1/2}$$

τ = Tensão de Cisalhamento (Pa)

γ = Taxa de Deformação (1/ s)

K_o = Tensão Inicial (Pa)^{1/2}

K_c = Viscosidade Plástica de Casson K_c (Pa * s)^{1/2}

A tensão inicial $(k_0)^{1/2}$ é um parâmetro inerente no estado de repouso dos fluidos; é descrito como a resistência que possuem alguns fluidos para começar a escoar, ou a força que precisa aplicar-se para que o fluido comece a escoar (SEGUINE, 1985). Com estas considerações o $(K_0)^{1/2}$ foi utilizado neste trabalho como um referencial das tendências de velocidade de sedimentação do suco extraído dos subprodutos de abacaxi.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos resultados de $(K_0)^{1/2}$ neste estudo, (Tabela 1) os maiores valores apresentados são os que mais rapidamente sedimentam, em ordem decrescente. Os valores de velocidade de sedimentação não são quantitativos, são valores qualitativos escolhidos aleatoriamente, no entanto demonstram uma tendência que se observou na velocidade de sedimentação dos sucos submetidos a hidrólise enzimática (figura 1).

Tabela 1- Valores das médias de K_0 e K_c

Amostra % de Enzimas	$(K_0)^{1/2}$	$K_c (Pa*s)^{1/2}$
0,03	0,80	0,085
0,3	1,09	0,085
0,38	2,08	0,13
0,75	2,60	0,14
Controle*	2,19	0,145

* Nas amostras controle nenhuma concentração de enzima foi adicionada

Concentrações baixas de enzima gamanase 1.0 L (0,3%-0,03%) são necessárias para hidrolizar a goma nativa do suco. As amostras (sucos) hidrolizadas com menores concentrações possuíam menor viscosidade plástica e sedimentavam menos que as que foram hidrolizadas com maiores concentrações.

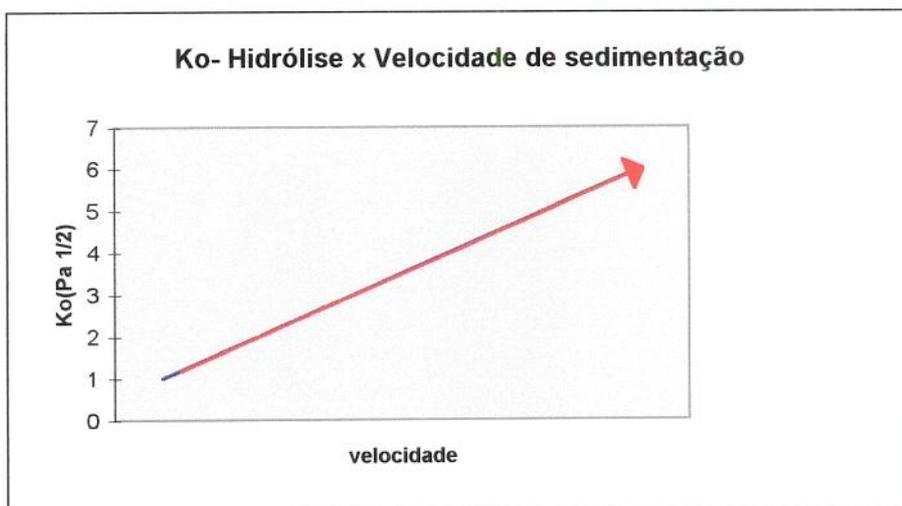


Figura 1- Valores de tensão inicial ($Ko^{1/2}$) do suco hidrolisado com gamanase em concentrações de (0,3-0.03%) relacionados com velocidade de sedimentação observada.

Em um estudo paralelo (medindo o Ko de suco de subprodutos de abacaxi homogeneizado teor de polpa 35%) observou-se que sucos com valores de Ko maiores sedimentavam menos que os com valores menores (fig.2), a única diferença nas condições do experimento sendo a distância entre as placas paralelas do reometro, que no caso das amostras hidrolizadas foi de 1.00mm a diferença de 0,5 mm que se utilizou para as amostras homogeneizadas.

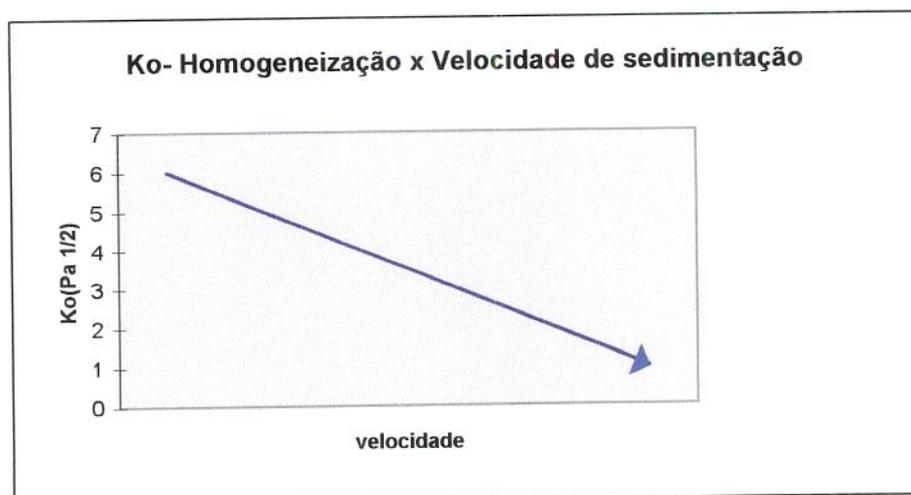


Figura 2- Valores de tensão inicial ($Ko^{1/2}$) do suco homogeneizado com pressões de (6000,7000, 8000 psi) relacionados com a velocidade de sedimentação observada.

Embora tenha se observado nos experimentos de hidrólise enzimática, que sucos com valores menores de K_o sedimentavam menos, é importante fazer algumas observações que justificam estas diferenças de critério do $(K_o)^{1/2}$ de um processo para outro.

As partículas do suco hidrolizado são muito heterogêneas pela mistura de material (casca, miolo, extremidades e pequenas quantidades de polpa aderidas na casca), as partículas homogeneizadas são mais homogêneas. O suco hidrolizado formava grumos que impediam a medição em distâncias de placas menores a 1.00 mm enquanto o suco homogeneizado não formava grumos e podia ser medido em distâncias de placas de 0,5 mm. O reômetro de Haake é muito sensível nas suas medidas e uma partícula ou conjunto de partículas diferentes modifica a repetibilidade. As duplicatas de amostras hidrolizadas não tinham valores próximos de $(K_o)^{1/2}$ como as amostras homogeneizadas.

Precisam-se de mais estudos para afirmar que o $(K_o)^{1/2}$ dos sucos hidrolizados dos subprodutos de abacaxi pode ser utilizado como um parâmetro para avaliar a velocidade de sedimentação do mesmo. Estes estudos contribuiriam para demonstrar porquê o $(K_o)^{1/2}$ apresentou diferentes critérios em processos diferentes (fig. 3).

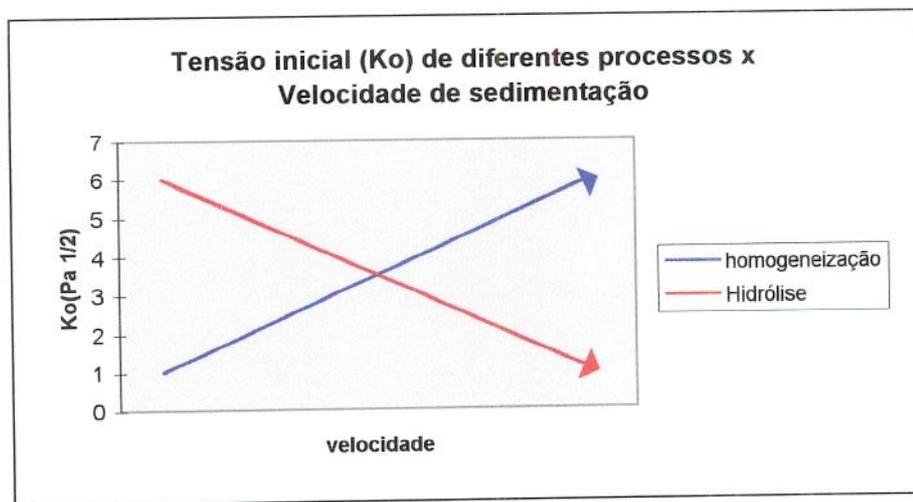


Figura 3- Valores de tensão inicial $K_o^{1/2}$ dos processos de hidrólise enzimática e homogeneização em relação a velocidade de sedimentação observada.

A tabela 3 apresenta os valores de $(K_o)^{1/2}$ nos diferentes processos. Formulando uma hipótese (mais pelos fatos qualitativos observados que dos quantitativos), no caso destas tendências serem reproduzidos muitas vezes em diferentes condições de medição, pode existir

a possibilidade de testar estes nos processamentos combinados (hidrólise-homogeneização), para obter um ponto onde forças antagônicas com valores similares convirjam e os sólidos insolúveis em suspensão não sedimentem.

Na hidrólise parcial dos galactamananos aumentam as unidades monoméricas e a área de retenção de água do substrato hidrolisado. Se uma força empurra um conjunto de partículas bem homogeneizadas até o fundo de uma garrafa poderia também existir uma força antagônica de retenção que a chamaremos gomas não hidrolisadas ou parcialmente hidrolisadas, que exercem o efeito contrario, e tentam evitar essa tendência. ASKAR et al, (1992) e CARLE (1998) reportaram que após a hidrólise enzimática ocorre uma formação de partículas extremamente hidratadas que podem promover a suspensão de partículas sólidas., Isto favorece a estabilização dos sucos pelo aumento na distribuição das partículas e a redução da densidade entre o soro e os sólidos em suspensão do suco.

Tabela 3- Valores de K_o dos processos de Homogeneização e Hidrólise enzimática.

Hidrólise: (% de Enzima)	$(K_o)^{1/2}$	Homogeneização (psi)	$(K_o)^{1/2}$
0,03	0,80	6000 (35%)*	0,755
0,3	1,09	7000 (54,3%)+	0,520
0,38	2,08	8000 (54,3%)	0,509
0,75	2,60	Controle (35%)	3,054
Controle	2,19		

*Amostra com 35% de teor de polpa.

+ Amostra com 54,3% de teor de polpa.

Em relação a viscosidade aparente η (Pa*s) na TABELA 4 pode-se observar os valores máximo e mínimo de viscosidade encontrados e seus respectivos valores de $(K_o)^{1/2}$

Tabela 4- Parâmetros reológicos: Viscosidade aparente η (Pa*s) e $(K_o)^{1/2}$ Pa^{1/2} de sucos dos subprodutos de abacaxi após hidrólise com hemicelulase.

Concentração de enzima (%)	Viscosidade Aparente (η) (Pa*s)	$(K_o)^{1/2}$ Pa ^{1/2}
0,75	0,36	2,6
0,38	0,23	2,1
0,30	0,08	1,1
0,03	0,05	0,8
Controle	0,28	2,2

A perda da viscosidade aparente do suco diminuiu em proporção inversa à concentração de enzima utilizada para a hidrólise, no entanto esperava-se que ocorresse o contrário, ou seja, em concentrações maiores de enzima deveria ocorrer uma perda maior de viscosidade aparente. Na tabela 4 pode-se observar os valores máximo e mínimo de viscosidade encontrados.

As observações do ensaio de sedimentação nas amostras analisadas (tabela 4) foram, em ordem decrescente de velocidade de sedimentação: 0,75% > controle > 0,38% > 0,3% > 0,03%. Os valores de viscosidade aparente sugerem o contrário das observações qualitativas de sedimentação e aquilo indicado pelos valores de $(K_o)^{1/2}$, pois maiores valores de viscosidade sugerem uma menor sedimentação, fato que não ocorreu neste trabalho.

A viscosidade aparente dos sucos (teor de polpa 35%) homogeneizados a 6000 psi foi muito próxima a do suco hidrolizado com 0,03% de gamanase, isto também foi observado em relação aos valores de $(K_o)^{1/2}$ comparar valores destacados com negrito TABELA (4, 5).

Tabela 5- Parâmetros reológicos: Viscosidade aparente η (Pa*s) e $(K_0)^{1/2}$ Pa^{1/2} de sucos dos subprodutos de abacaxi após homogeneização

Pressão de Homogeneização (psi)	Viscosidade Aparente (η) (Pa*s)	$(K_0)^{1/2}$ Pa ^{1/2}
6000 *	0,04	0,76
7000 **	0,03	0,52
8000 **	0,03	0,48
Controle *	3,05	0,16

*Amostra com 35% de teor de polpa.

** Amostra com 54,3% de teor de polpa.

Todos os dados de viscosidade aparente foram as médias dos valores obtidos no terceiro ponto de corrida à altura do valor de taxa de deformação de 50 (1/s). Não foram escolhidos o primeiro e o segundo pontos para evitar erros provocados pela heterogeneidade e formação de grumos das partículas após o processo da hidrólise enzimática.

A diminuição da viscosidade aparente por hidrólise enzimática foi maior do que a provocada pelo processo mecânico de homogeneização nas condições de estudo. Dividindo-se o valor máximo de viscosidade pelo mínimo (0,28/0,05), calcula-se a taxa de diminuição de viscosidade (5,6 vezes). Pelo outro lado a diminuição da viscosidade aparente aplicando uma pressão de homogeneização de 6000 psi em um suco de (35%) de teor de polpa foi de 4 vezes (0,16/0,04) em relação à amostra controle. Estes dados sugerem que o processo de hidrólise enzimático diminui a viscosidade aparente 1,4 vezes (5,6/4) mais que o processo mecânico de homogeneização no suco com teor de polpa de 35%.

As figuras (4-13) representam os ajustes de Casson dos parâmetros tensão de cisalhamento vs taxa de deformação. O comportamento da viscosidade aparente das amostras em relação a taxa de deformação esta descrito nas figuras (14-23)

FIGURAS (4-13) - Ajuste de Casson. Tensão de Cisalhamento (TC) vs Taxa de Deformação (TD)

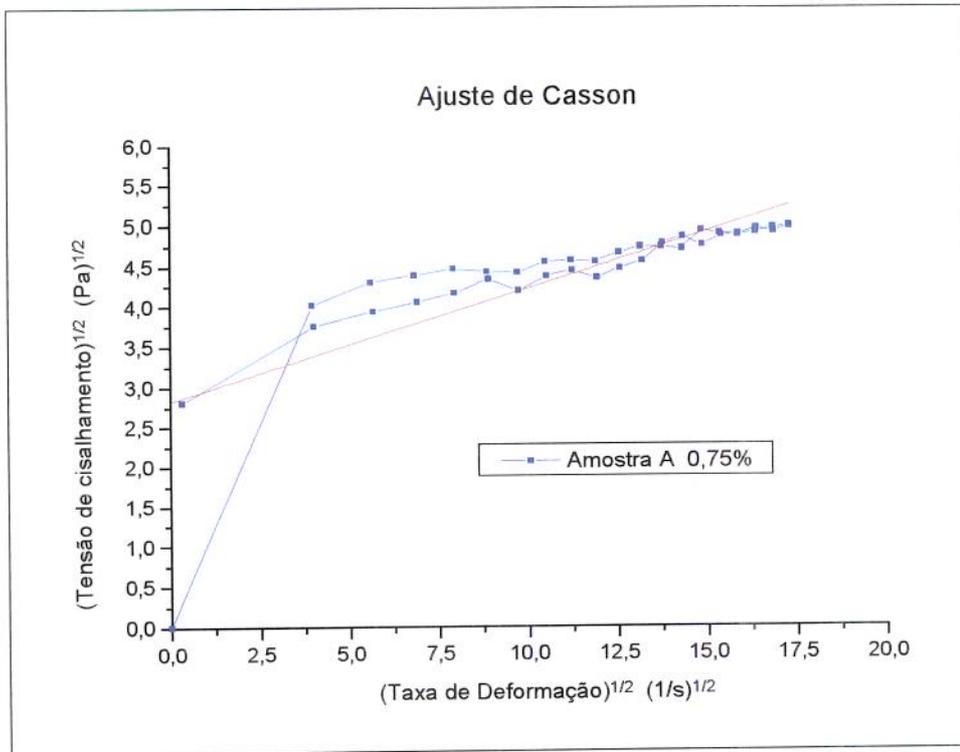


Figura 4 – “Mill Juice” Hidrolisado com 0,75% de hemicelulase. TC X TD

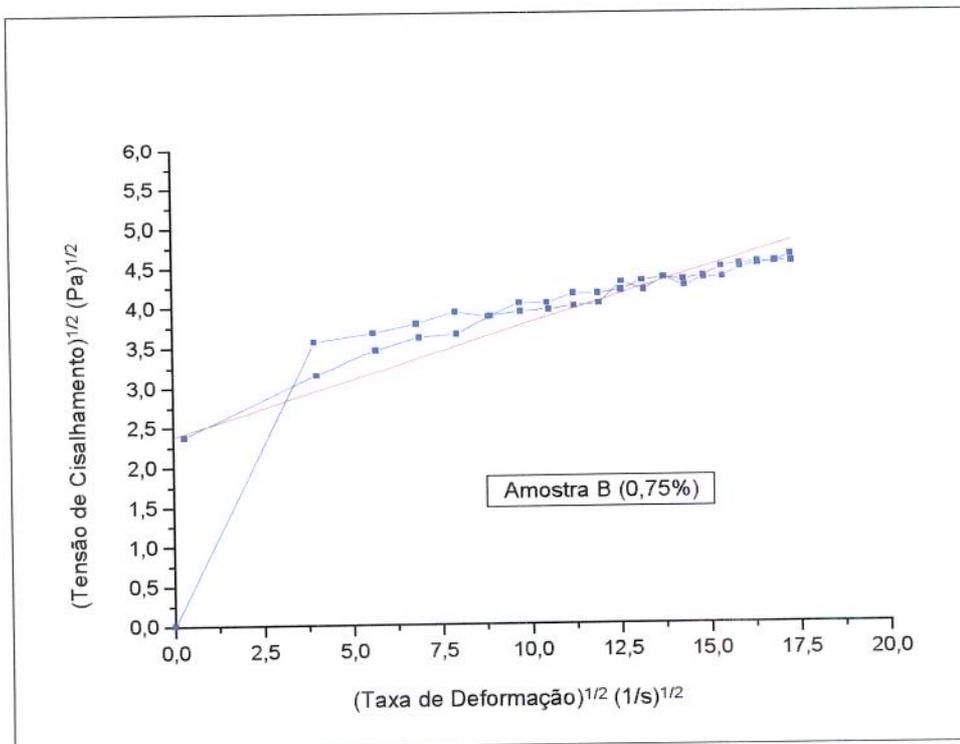


Figura 5 – “Mill Juice” Hidrolisado com 0,75% de hemicelulase. TC X TD

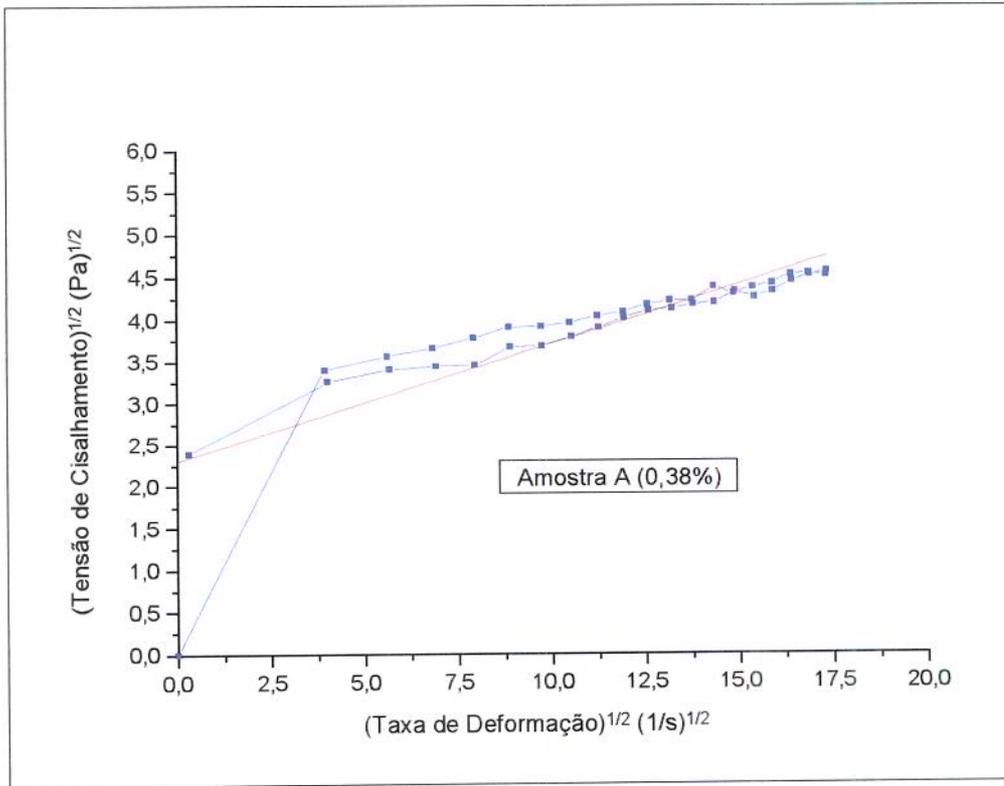


Figura 6 – “Mill Juice” Hidrolisado com 0,38% de hemicelulase. TC X TD.

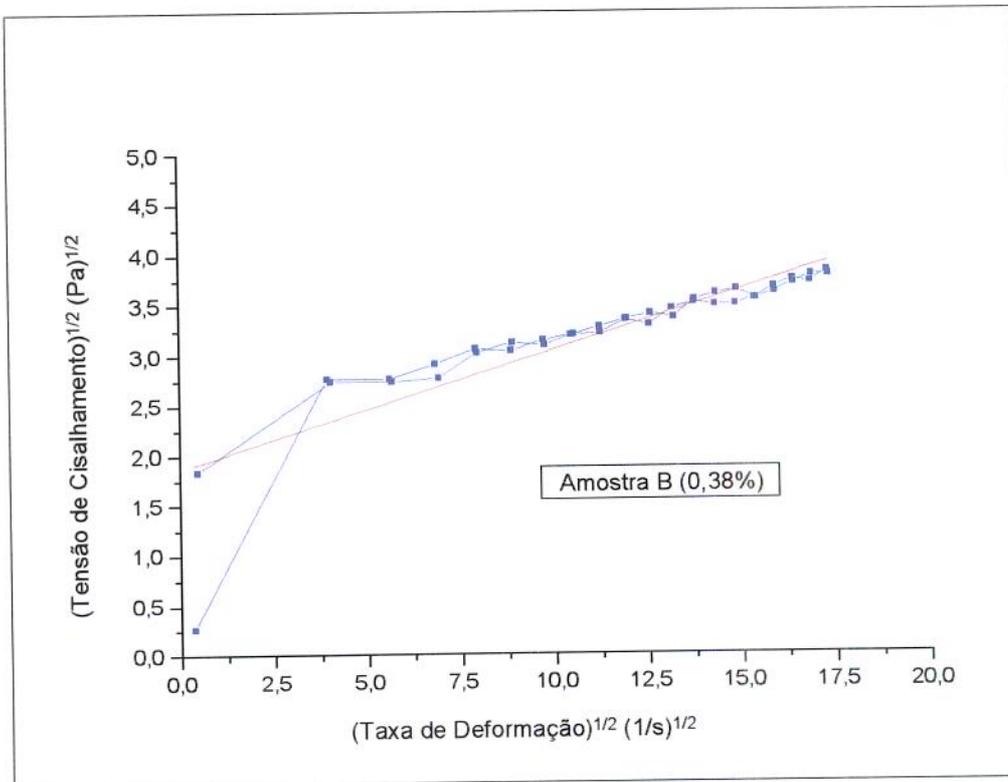


Figura 7 – “Mill Juice” Hidrolisado com 0,38% de hemicelulase. TC X TD.

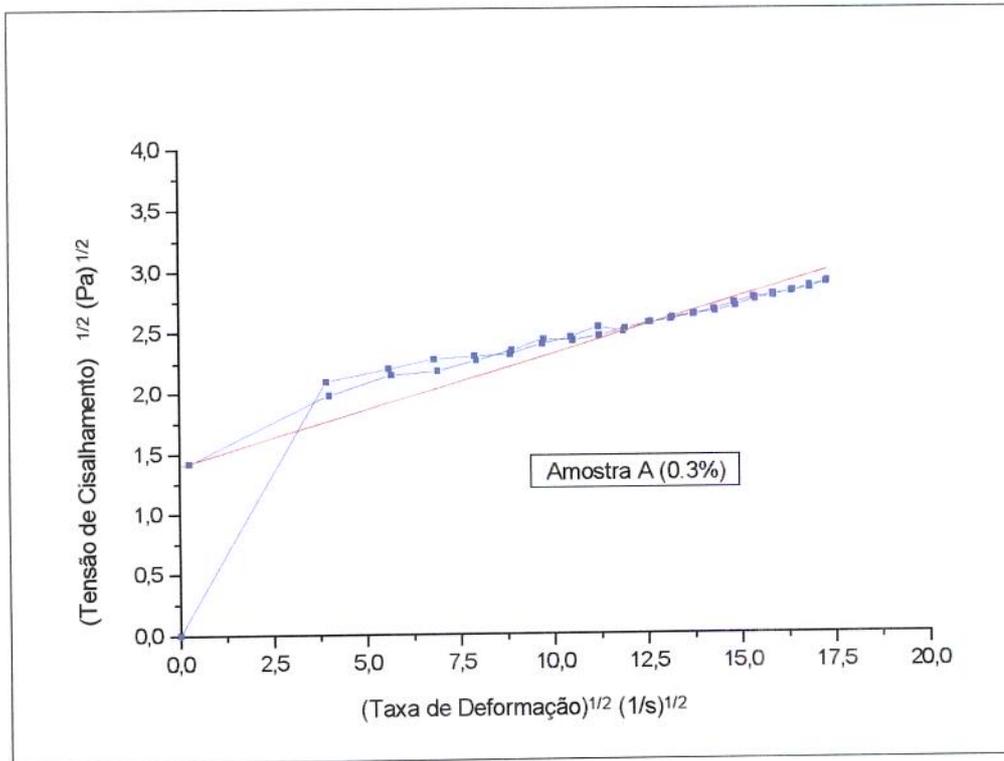


Figura 8 – “Mill Juice” Hidrolisado com 0,3% de hemicelulase. TC X TD.

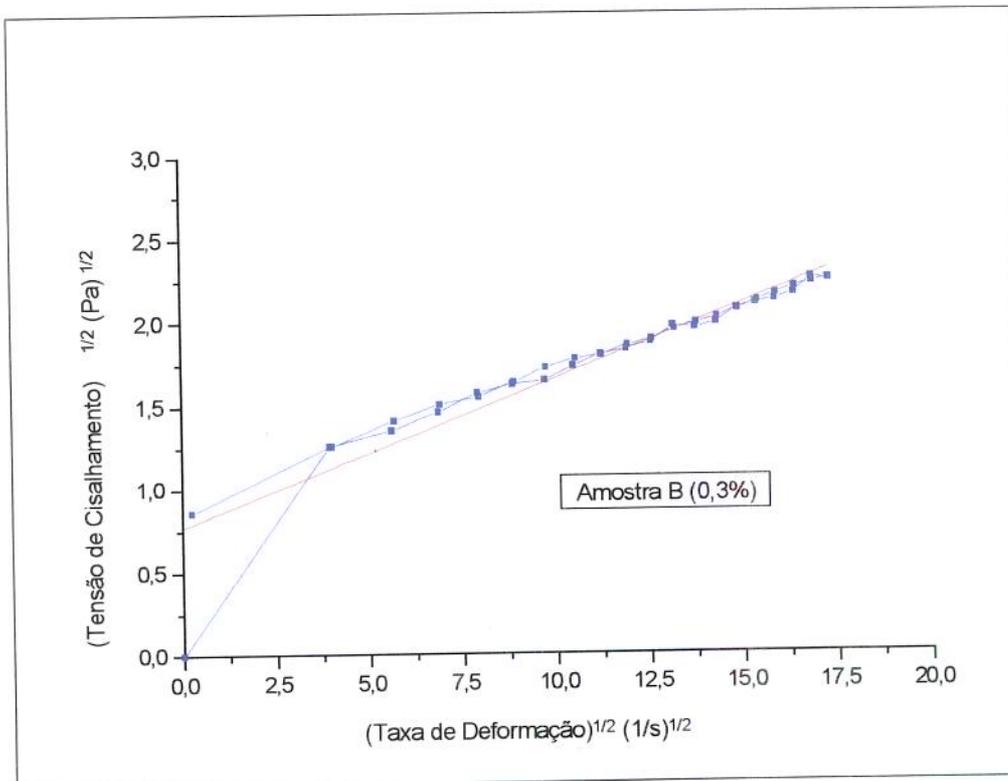


Figura 9 – “Mill Juice” Hidrolisado com 0,3% de hemicelulase. TC X TD.

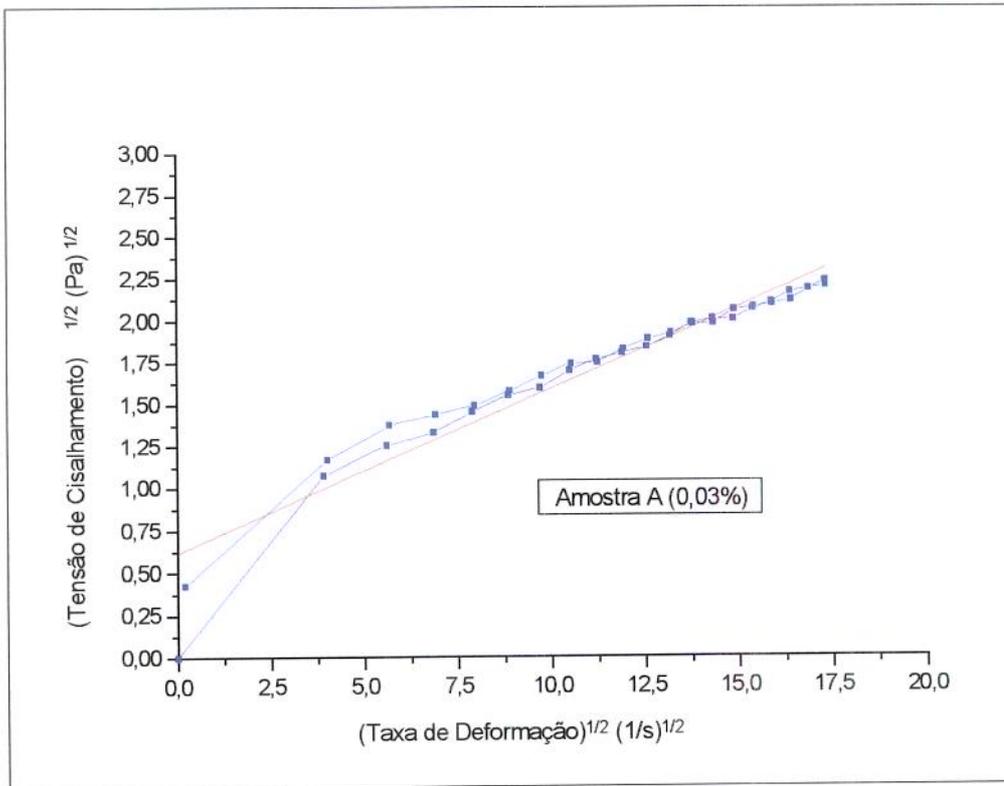


Figura 10 – “Mill Juice” Hidrolisado com 0,03% de hemicelulase. TC X TD.

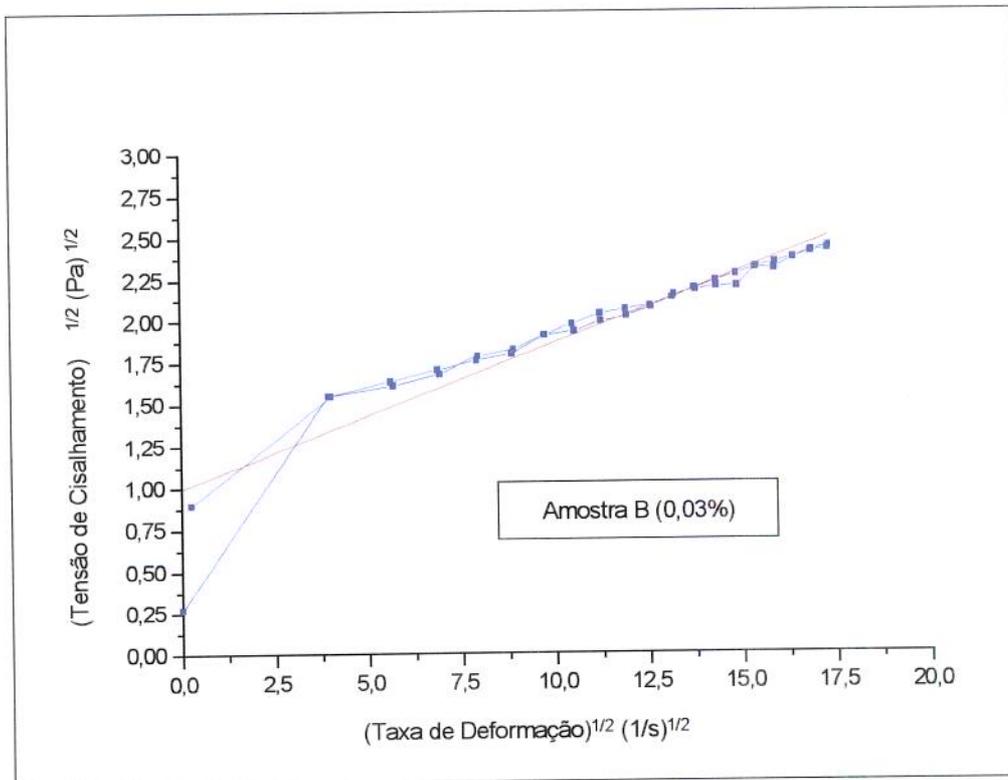


Figura 11 – “Mill Juice” Hidrolisado com 0,03% de hemicelulase. TC X TD.

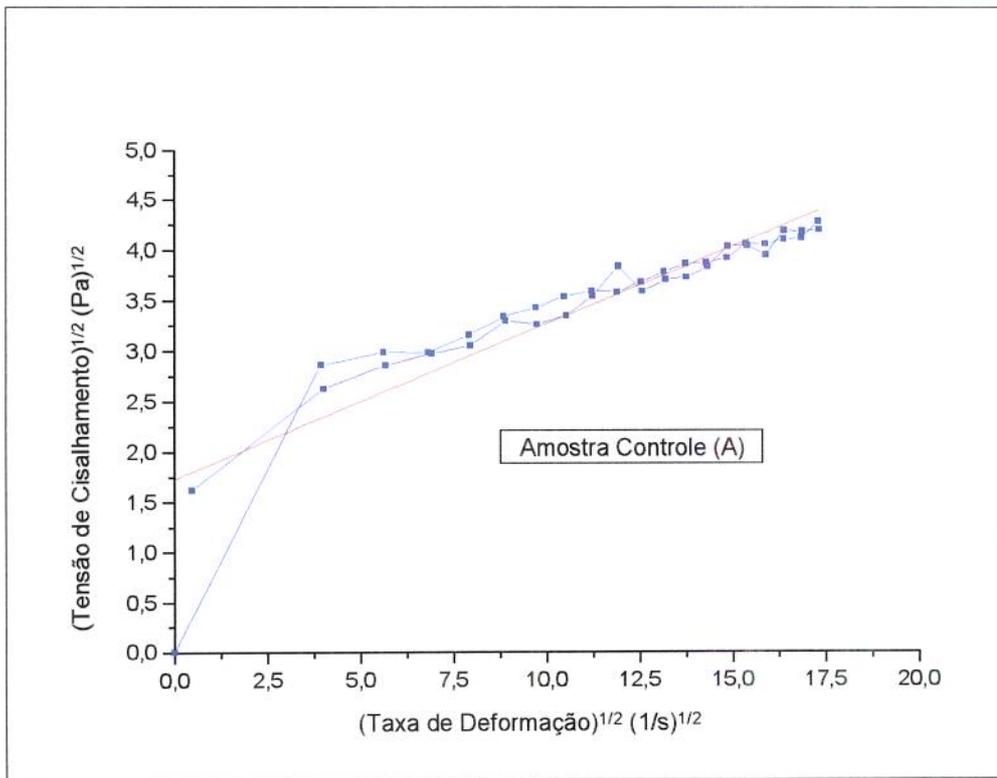


Figura 12 – “Mill Juice” Controle. TC X TD.

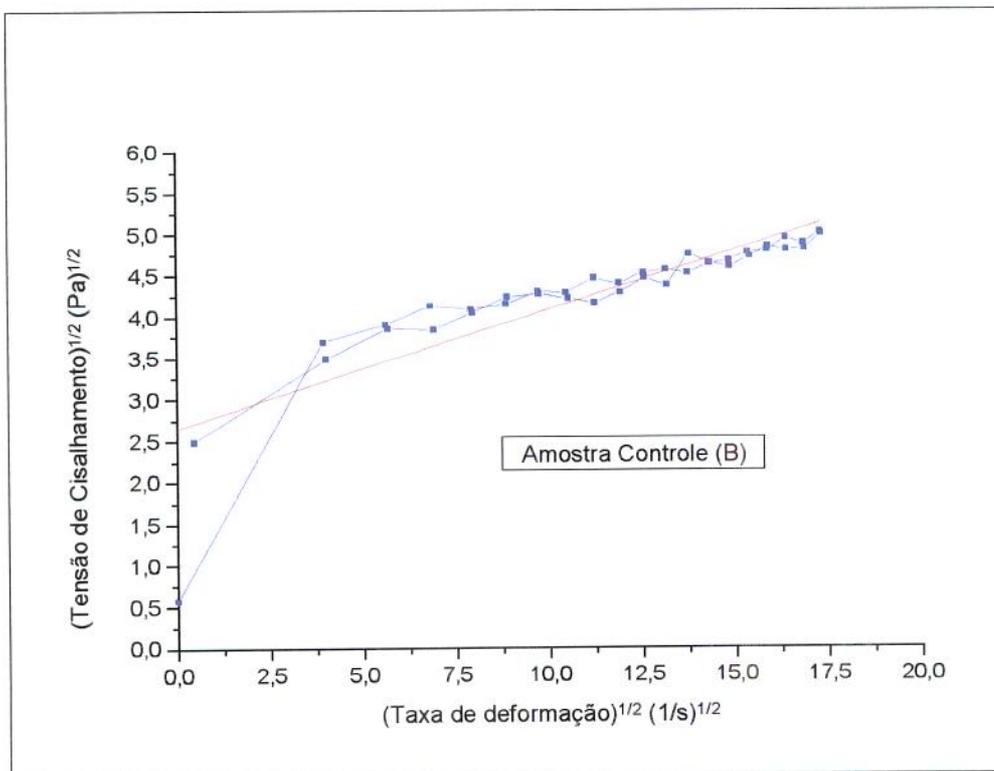


Figura 13 – “Mill Juice” Controle. TC X TD.

FIGURAS 14 -23: Viscosidade Aparente (VA) X Taxa de Deformação (TD)

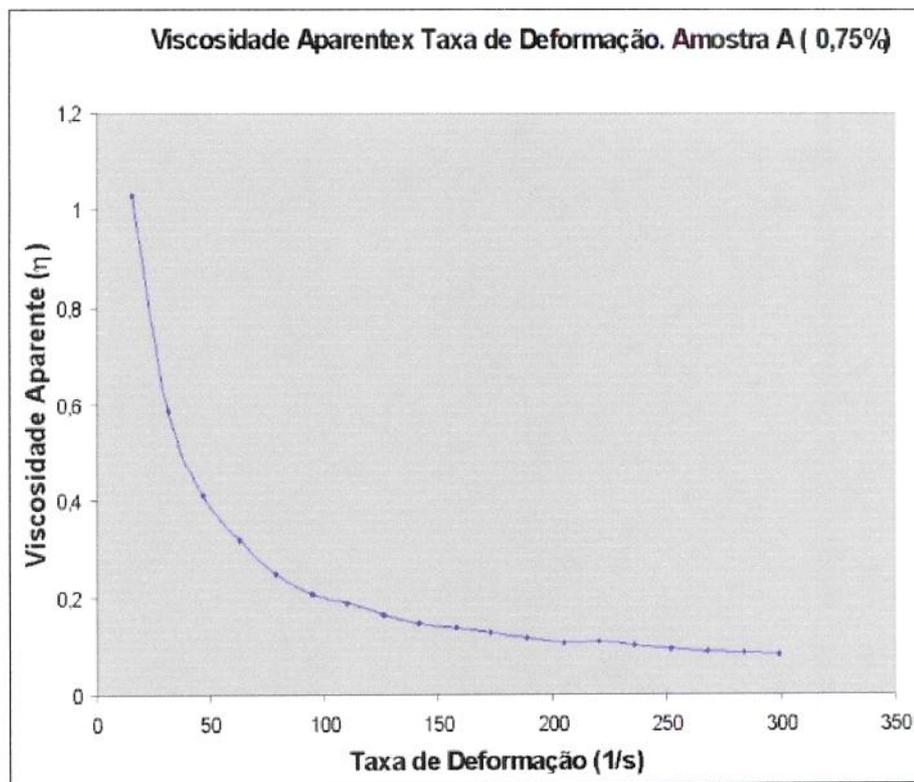


Figura 14 - “Mill Juice” hidrolisado com 0,75% de hemicelulase. Va X TD

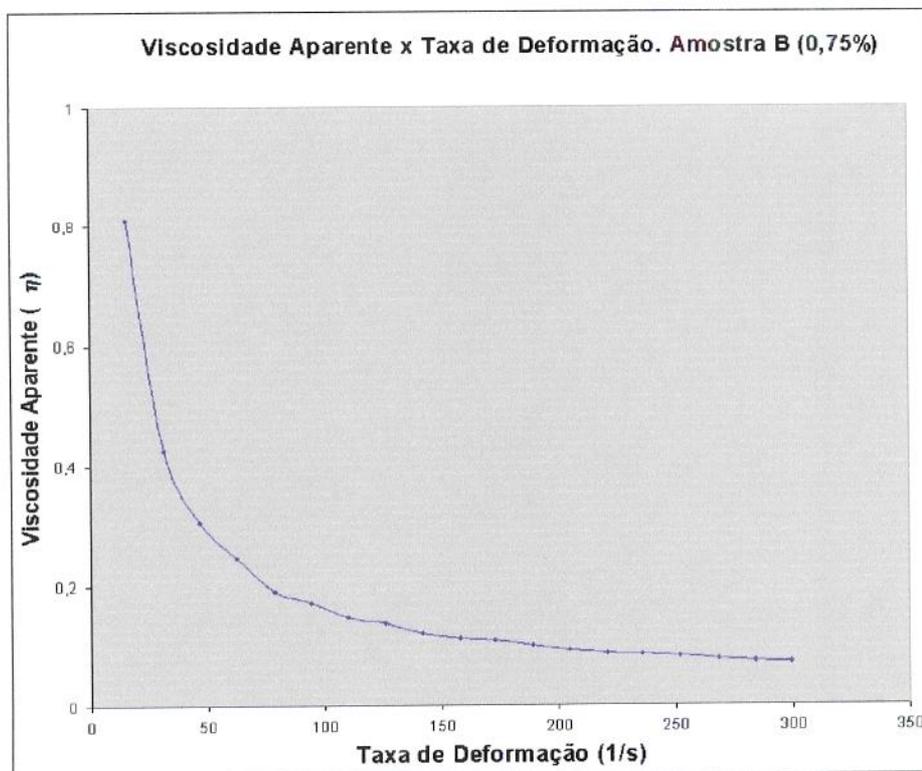


Figura 15 - “Mill Juice” hidrolisado com 0,75% de hemicelulase. Va X TD

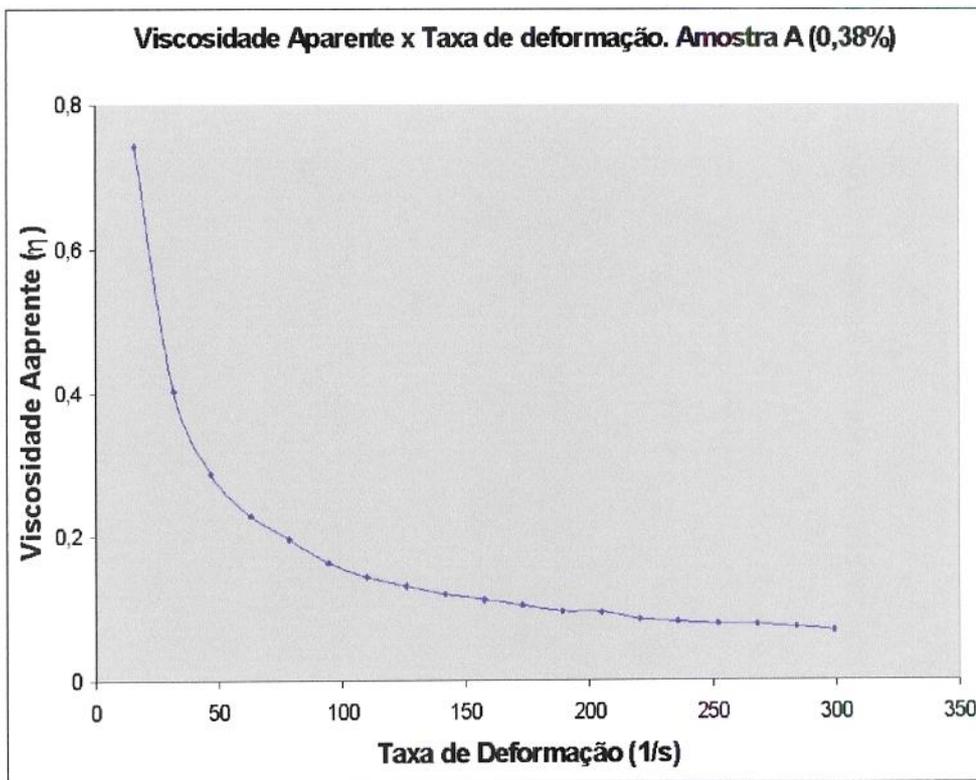


Figura 16 - “Mill Juice” hidrolisado com 0,38% de hemicelulase. Va X TD

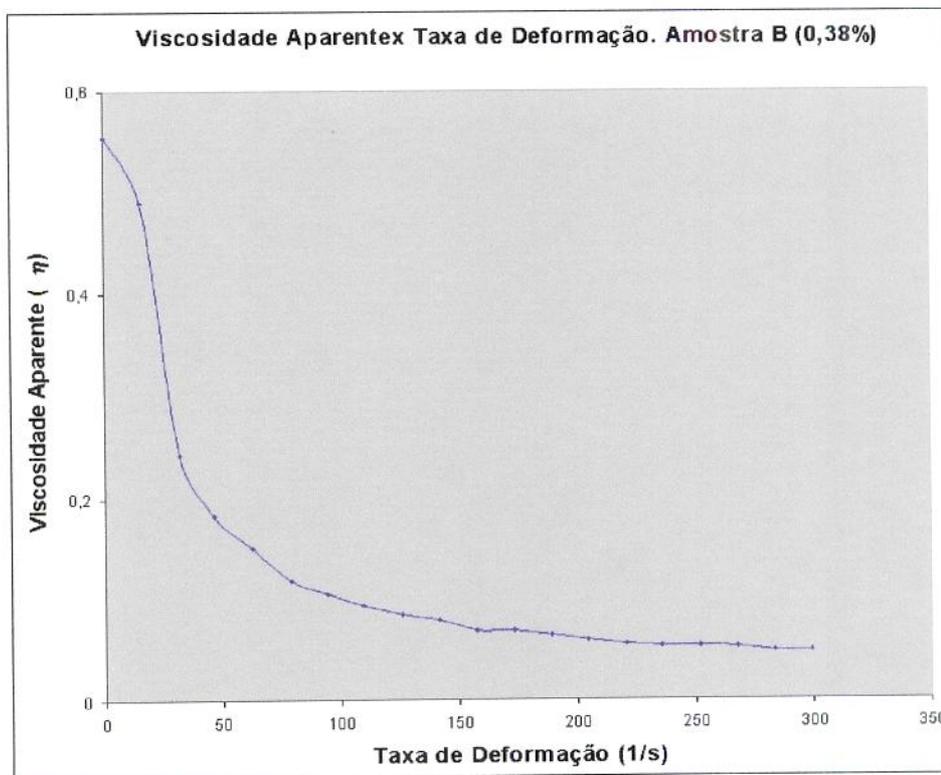


Figura 17 - “Mill Juice” hidrolisado com 0,38% de hemicelulase. Va X TD

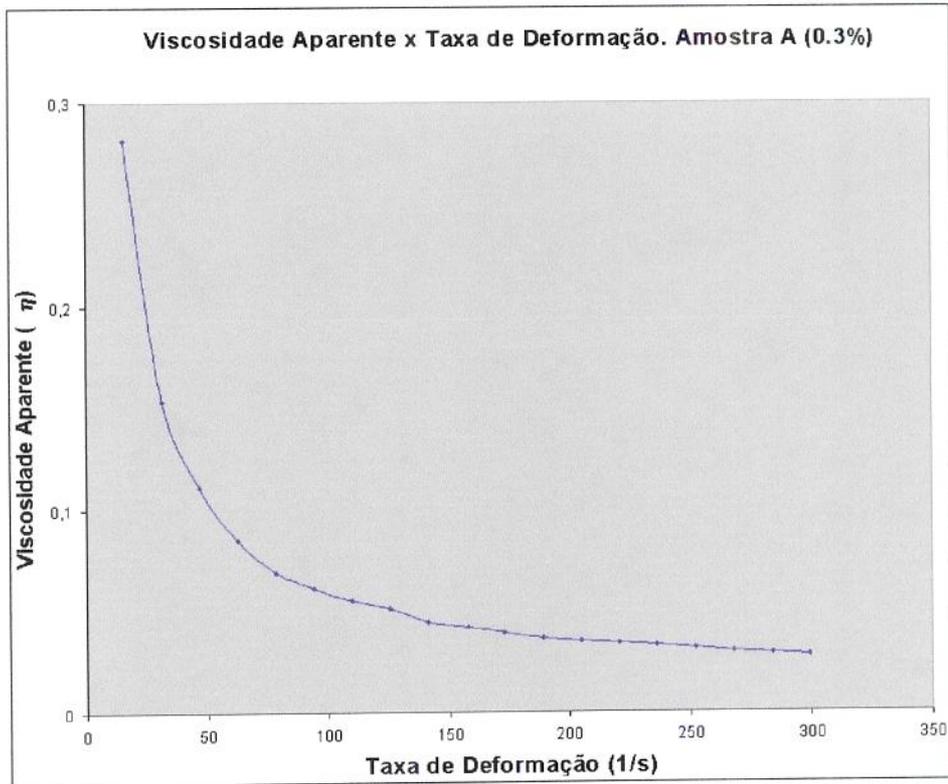


Figura 18 - “Mill Juice” hidrolisado com 0,3% de hemicelulase. Va X TD

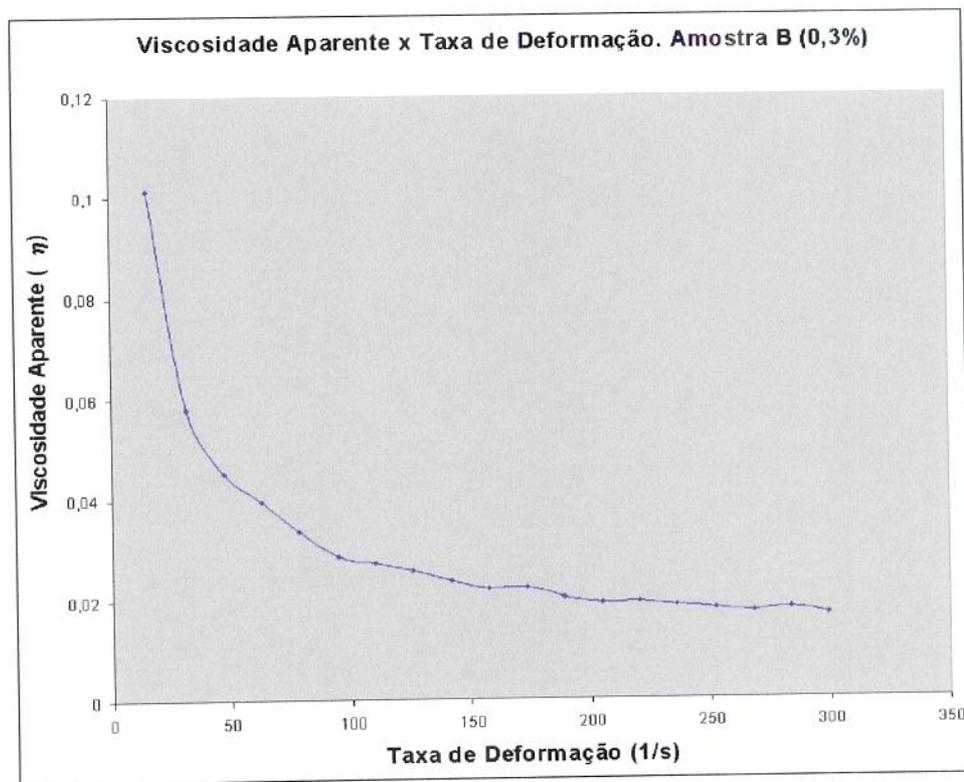


Figura 19 - “Mill Juice” hidrolisado com 0,3% de hemicelulase. Va X TD

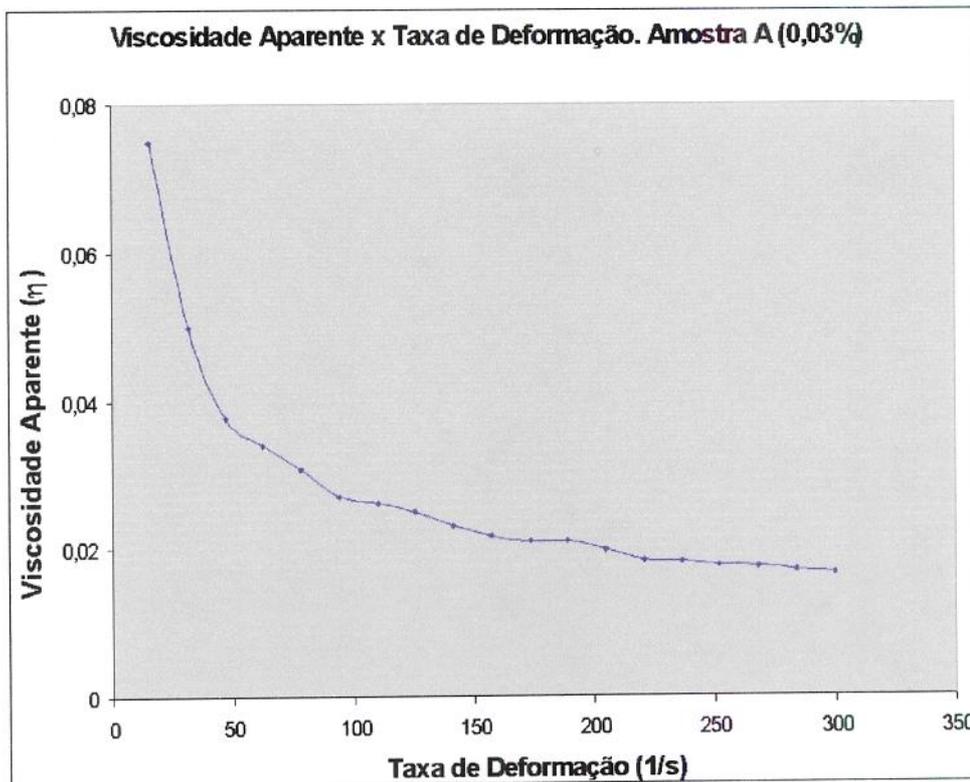


Figura 20 - “Mill Juice” hidrolisado com 0,03% de hemicelulase. Va X TD

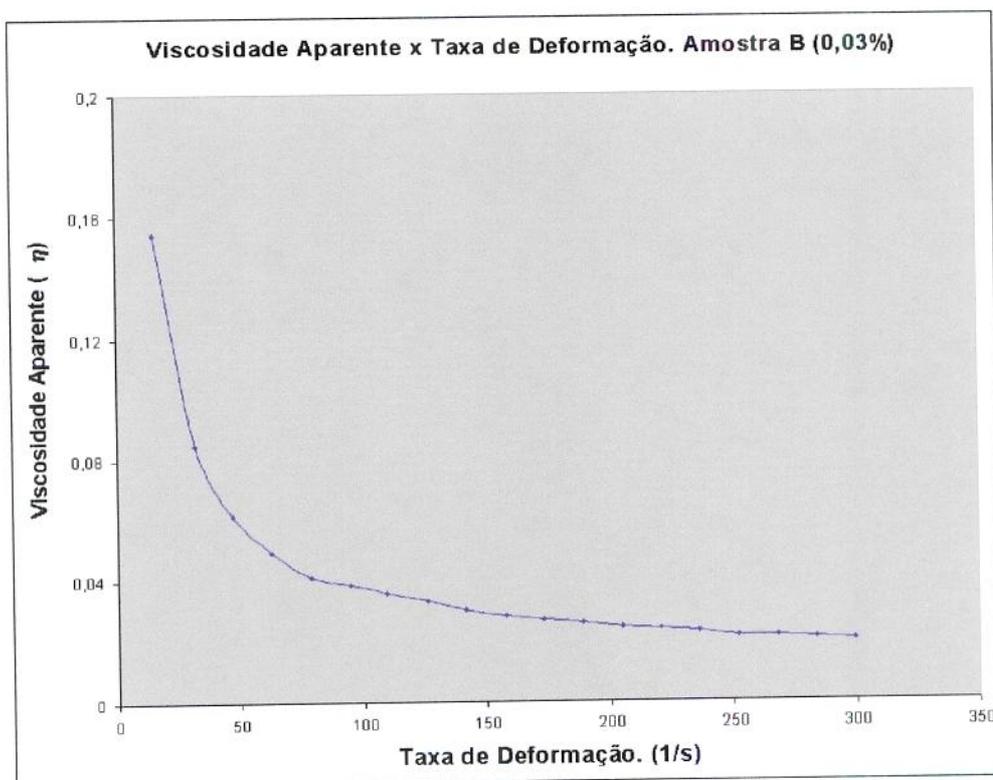


Figura 21 - “Mill Juice” hidrolisado com 0,03% de hemicelulase. Va X TD

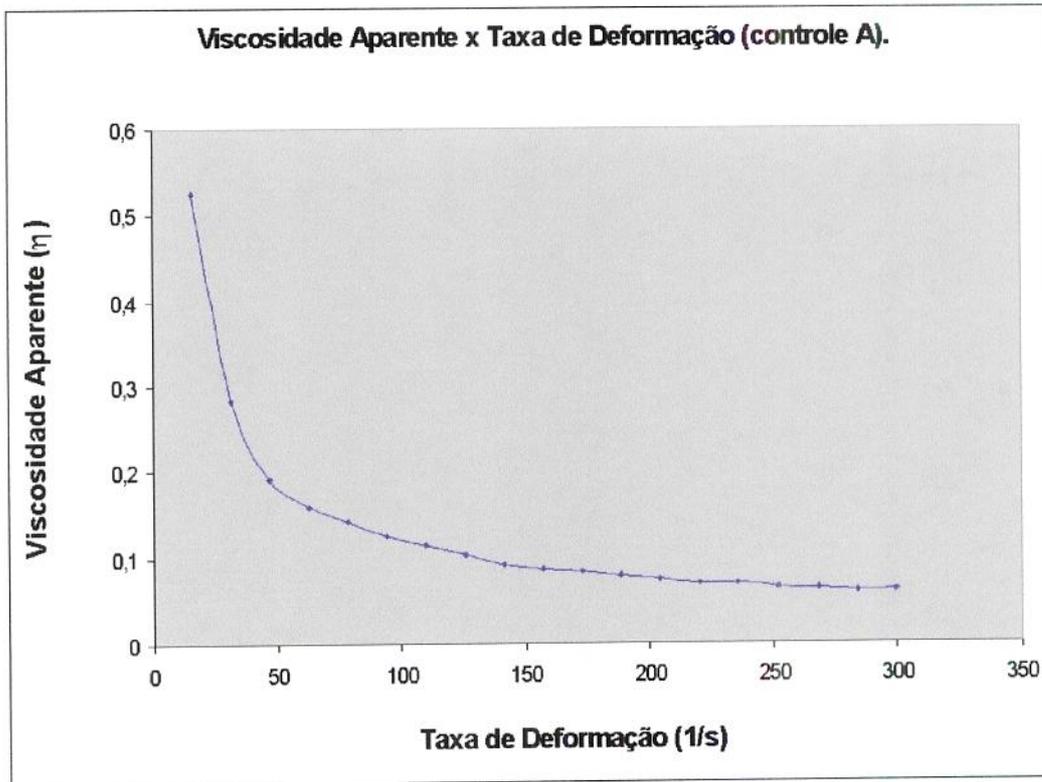


Figura 22 - “Mill Juice” Controle. Va X TD

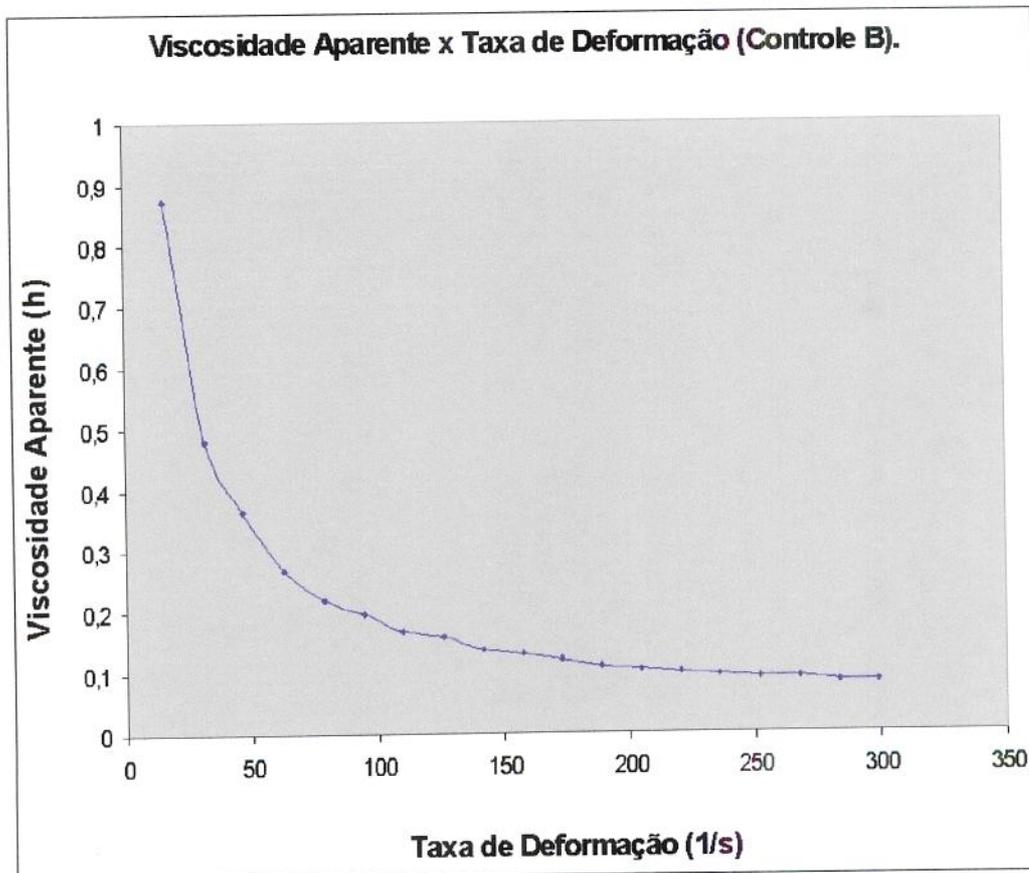


Figura 23 - “Mill Juice” Controle. Va X TD

5 CONCLUSÃO

A viscosidade aparente apresenta uma considerável diminuição quando são utilizadas menores concentrações de enzima (0,03% - 0,3%). Aparentemente estas concentrações são as mais apropriadas neste estudo para hidrolizar a goma nativa presente no suco dos subprodutos de abacaxi.

Neste estudo referente a gomas nativas presentes no suco, os resultados do trabalho sugerem algumas hipóteses que precisam ser confirmadas, principalmente em relação a utilização do parametro de $(K_o)^{1/2}$ como parâmetro para medir as tendências de sedimentação do suco,

Estudos conjuntos dos diferentes processos são necessários para entender melhor o fenômeno da sedimentação

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARTOLOME, A.P., RUPÉREZ, P., Polysaccharides from the Cell Walls of Pineapple Fruit, J. Agric. Food Chem. v. 43, n. 3, p. 608- 612, 1995.
- CARLE, R., Cloud stability of pulp-containing tropical fruit nectars Fruit Processing v. 8, n. 7, p. 266-272, 1998.
- CHAN, J.K.C., MOY, J.H., Hemicellulose –B from commercial pineapple juice underflow Journal of Food Science v. 42, n. 6, p. 1451-1453, 1977.
- CHENCHIN, K.L., YAMAMOTO, H.J. Isolation , characterization and enzymic hydrolysis of pineapple gum. Journal of food science , v.43, p. 1261-1263, 1978.
- CHENCHIN, K.L., YUGAWA, A., YAMAMOTO, H.J. Enzymic degumming of pineapple and pineapple “Mill Juice”s Journal of food science , v.49, p.1327-1329, 1984.
- DOKO M.B, VALENTE .M JACOB M, PUECH A Consequences of fouling and macromolecule adsorption onto ultrafiltration membrane for pineapple juice processing. Journal of food processing engineering v. 14, n. 4, p. 279-289, 1991.
- JANSER, E., Enzyme applications for tropical fruits and citrus Fruit processing v. 10, p. 388-393, 1997.
- MIZRAHI, S., FIRSTENBERG, R., Effect of orange juice composition on flow behavior of six- fold concentrate Journal of texture Studies v. 6, p. 523-532, 1975.
- SEGUINE, E.S., Turn, tur, turn, Casson viscosity revisited The manufacturing confectionering v. 177, n.5, 1997.

- SREENATH, H.K., SUDARSHANAKRISHNA, K.R., SANTHANAM, K., Improvement of juice recovery from pineapple pulp/ residues using cellulases and pectinases Journal of Fermentation and Bioengineering v. 78, n. 6, p. 486-488, 1994.
- SREENATH-H.K., NANJUNDASWAMY, A.M., SREEKANTIAH K.R Effect of various cellulases and pectinases on viscosity reduction of mango pulp. J. Of food Science v.52 n.1, p. 230-231, 1987.
- SZCZESNIAK, A.S., Rheological problems in the Food Industry Journal of Texture Studies v. 8, p. 119-133, 1977.
- TAO, S., BEIHUI, L., DEMING, L., ZUOHU, L., Effect of elevated temperature on *Trichoderma viride* SL- 1 in solid state fermentations Biotechnology Letters, v. 19, n. 2, p. 171-174, 1997.

CAPÍTULO 8 –

ENZIMAS

1 RESUMO

A pectinametilesterase (PME) é uma enzima altamente específica para as estruturas químicas de D-galacturonanos e catalisa a hidrólise dos grupos éster metílicos dos resíduos de ácido galacturônicos da pectina. A perda da turbidez do suco pasteurizado, como consequência da sedimentação da fase dispersa é um sério defeito de qualidade que é provocado pela ação da PME. A enzima PME está presente em todo material celular das plantas e se apresenta nas frutas em diferentes isoformas (isômeros), que têm diferentes estabilidades térmicas. Tem se reportado isômeros de PME que não perdem a sua atividade total ainda submetidos a temperaturas superiores a 100°C. Neste trabalho estudou-se em 9 condições diferentes (de tempo e temperatura) a velocidade de reação da PME com o substrato (pectina de alto grau de metoxilação 50%-65%), adicionada ao suco extraído dos subprodutos de abacaxi (*Smooth cayenne*). Os resultados foram avaliados em (ug) metanol liberado pela enzima PME que descreveu a velocidade de reação entre enzima (PME) e o substrato (pectina) em diferentes condições de tempo e temperatura. Posteriormente mediu-se a atividade residual da PME no tratamento que apresentou a menor concentração de metanol (menor velocidade de reação enzima-substrato). Os resultados da atividade residual da enzima foram descritos em ug/ml/min. O tratamento a 85°C/3,5 minutos apresentou baixa velocidade de reação enzima-substrato. Nessas condições a enzima PME liberou a menor concentração de metanol com relação aos outros 10 tratamentos. O tratamento a 75°C/1,45min foi o que apresentou maior atividade enzima-substrato pois apresentou a maior concentração de metanol liberada pela PME. Em relação a atividade residual da enzima PME, os tratamentos a 85°C/2-3 min. foram os que menor valor de atividade residual de PME apresentaram, sendo o melhor 85°C/3min. Estes últimos resultados de atividade residual da PME concordam com os valores obtidos no estudo de velocidade da reação enzima-substrato em condições de tempo e temperatura similares.

2 INTRODUÇÃO

Um dos principais problemas na indústria de frutas, é manter a turbidez dos sucos de frutas e vegetais durante o tempo de estocagem (CASTALDO et al 1997). Os sucos de frutas tropicais são frequentemente bebidas túrbidas devido ao alto teor de polpa que possuem. A dessestabilização por sedimentação ou parcial separação da polpa do soro do suco é um sério defeito de qualidade (ASKAR & TREPTOW, 1992; BINNING, 1992; GIOVANE, et al 1996). A aparência visual (cor) e distribuição homogênea das partículas em bebidas não clarificadas é um fator decisivo para a sua aceitação (CARLE, 1998). Após a sedimentação das partículas insolúveis há também perdas do sabor característico do suco (CAMERON *et al* 1998). Entre as principais causas da sedimentação e perda de estabilidade dos sucos estão o tamanho das partículas dispersas no suco e a inativação parcial (ou regeneração durante o estocagem) das enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase CASTALDO, 1991.

A pectinametilesterase (PME) é a enzima responsável pela separação de polpa dispersa em sucos cítricos e tropicais (BIGNON, 1996; MACDONALD, et al 1996). A PME rompe os grupos metil do C6 das pectinas esterificadas, formando pectina com baixo teor de metoxilo que sofre seguidamente a ação da poligalacturonase que rompe a cadeia formando ácido péctico de baixo peso molecular que se liga ao cálcio (cross-linking), precipitando posteriormente (CAMERON *et al* 1998; BAKER *et al*, 1996; BARRET, *et al.*, 1994).

Diversos autores tem reportado a resistência a tratamentos térmicos das enzimas pectinesterases. Esta termoestabilidade tem sido atribuída a frações (isoméricas) da enzima (SNIR, *et al* , 1996, HOLLAND *et al* , 1976; CAMERON *et al* (1995).

A PME tem sido encontrada em todo material extraído de plantas. Nas frutas normalmente existem dois ou mais isômeros desta enzima, tendo um destes maior estabilidade térmica que seu homólogo ALONSO et al 1997

A PME tem se destacado por ser termoestável. Tratamentos térmicos drásticos, superiores a 101°C, em suco de abacaxi, foram necessários para inativar a pectinametilesterase (CASTALDO *et al* 1991; GHERARDI et al 1994). Em um trabalho realizado por CASTALDO *et al* (1997), com 18 amostras de sucos comerciais processados de

8 diferentes frutas, somente 4 amostras provenientes de diferentes firmas processadoras de suco de abacaxi, apresentavam atividade da enzima PME residual.

CAMERON et al (1995) encontrou que 45,2% de atividade da enzima em "grapefruit", se mantém após tratamento térmico de 95°C por 1 minuto. CAMEROGLU, 1998 encontrou 4-5% de atividade de PME em laranjas e "grapefruit" após 5 minutos a 90°C. Foram também estudadas as resistências térmicas de 6 isômeros de PME em laranjas. A forma mais termoestável manteve 29% da atividade depois de ter sido incubada a 95°C /1min (CAMERON *et al.*, 1994). Estes trabalhos fortalecem a hipótese de que o principal fator responsável pela sedimentação e perda de turbidez no suco de abacaxi seja uma fração termoestável de PME ainda não caracterizada e purificada, embora sua presença na sua forma nativa foi comprovada por GHERARDI *et al* (1994).

Tem sido estudada por muito tempo a estabilidade térmica da pectinesterase, a maioria dos estudos têm sido feitos no intervalo de 70- 95°C, e na grande parte foi reportada a ocorrência de isoenzimas de pectinesterases termoestáveis (DE SIO *et al* 1995, LABIB *et al*,1995; ALONSO *et al* , 1997).

O conteúdo de pectina no soro e lamela média das frutas é muito importante na estabilização de sólidos em suspensão, por exemplo no abacaxi a pouca porcentagem de pectina é responsável pela baixa estabilidade deste suco. Desta maneira o baixo conteúdo de pectina, acrescentado ao retardo da inativação da PME, são uns dos fatores responsáveis pela sedimentação de sucos GHERARDI *et al* 1994, CARLE, 1998.

As pectinas são polissacarídeos estruturais que se encontram nas plantas superiores fornecendo-lhe certas propriedades de textura. Estão constituídas por cadeias de ácido D-galacturônico com uniões alfa. Dependendo do grau de esterificação e do comprimento das cadeias as substâncias pecticas dividem-se em três:

- a) Pectinas
- b) Ácido pectico ou pectato
- c) Ácido pectínico

As mudanças estruturais destas substâncias são fatores que estão associados a ação de enzimas, principalmente as pectinesterases e poligalacturonases (MONTAÑEZ)

Tabela 1- Concentração de pectina em frutas frescas (%)

FRUTA	PECTINA %
Maçã	0,5-1,6
Pêra	0,5-0,8
Damasco	0,7-1,3
Laranja*	4,5-4,9
Limão	3,0-4,0
Grapefruit	1,6-4,5
Pêssego	0,3-1,2
abacaxi***	0,21
Suco de resíduos de abacaxi ("Mill Juice")****	0,08-0,1

Fonte: FOGARTY, 1972; BRADOCCK*; JANSER, 1997***; Anônimo 1998 ****.

Foi escolhida a metodologia de superfície de resposta para analisar a atividade da PME após tempos e temperaturas pre-determinados. Esta metodologia tem a vantagem de otimizar as condições dos parâmetros de estudo, quaisquer sejam os objetivos propostos.

O objetivo deste trabalho foi encontrar um tratamento combinado dos parâmetros tempo (0,05-3,5 min).e temperatura (75-95°C) onde a PME presente no suco do abacaxi apresente a menor atividade (velocidade de reação com o substrato pectina metoxilada). O segundo objetivo é determinar a atividade residual da enzima PME a 30°C/1h em intervalos de 0, 1, 2, 3 ,4 ,5 minutos, .nas condições ótimas determinadas para a velocidade de reação.

3 MATERIAL E METODOS

Foi utilizado abacaxi de variedade *Smooth Cayenne* para produção de suco dos subprodutos de abacaxi "mill juice". O "mill juice" é o suco extraído das cascas, miolo e

extremidades de abacaxi. Na atualidade as indústrias processadoras do suco de abacaxi, utilizam toda a fruta para a extração do suco, o que representa um aumento no rendimento de 30% (SAVITCI, 1995; TISSEAU, 1986).

3.1 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE (VELOCIDADE DE REAÇÃO ENZIMA-SUBSTRATO) E ATIVIDADE RESIDUAL DA ENZIMA PECTINAMETILESTERASE

As atividades da pectinametilesterase (velocidade de reação com o substrato e atividade residual) foram determinadas segundo o método colorimétrico para quantificar metanol descrito por WOOD E SIDIQI (1971). As leituras de absorvância (412nm) foram realizadas em um espectofotômetro Beckman DU-70. Foram utilizados reagentes de grau analítico e de acordo com os requisitos dos métodos empregados, incluindo permanganato de potássio, arsenito de sódio, acetilacetona (destilada na hora da análise), tampão pH 7,5 e pectina (Unipectine SS 150 citrus), com grau de esterificação entre 50- 65%.

3.1.1 EXTRAÇÃO DE PECTINAMETILESTERASE (PME)

O suco extraído foi centrifugado a 4°C, 5000rpm /8 minutos. A diluição utilizada foi 1:6 (água destilada a 4°C: suco centrifugado).

3.1.2 AMOSTRA CONTROLE

Foram utilizadas amostras controle (sem adição de pectina de alta metoxilação) para cada tratamento, para descontar do resultado a quantidade de metanol liberado antes dos tratamentos pela pectina nativa do abacaxi pela ação da PME. Os resultados apresentados de concentração de metanol foram obtidos pela diferença de concentração das amostras tratadas que contém a pectina de alta metoxilação com o controle.

3.1.3 TESTES PRELIMINARES

Ensaio preliminar para testar o método demonstraram a grande sensibilidade do mesmo, e comprovaram que existe atividade enzimática de PME acima de 95°C. A atividade foi maior em 75°C em ambos os tratamentos, no tempo escolhido aleatoriamente (1 min). Nestes ensaios também foi escolhida a diluição de amostra mais apropriada. A atividade da PME foi definida como: $\mu\text{g metanol /ml /min}$.

3.1.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi escolhida a metodologia de superfície de resposta descrita por ARTEAGA *et al* (1994) para delinear e analisar os resultados do experimento, que visava medir a velocidade de reação (enzima - substrato). A metodologia trabalha com variáveis independentes, e com variáveis dependentes. Trabalhou-se com 2 variáveis independentes: tempo (min.) e temperatura (75°C -95°C), a variável dependente foi a concentração de metanol liberada pela enzima pectinametilesterase. A concentração de metanol descreve a velocidade de reação da enzima (PME) com o substrato (pectina). Utilizando esta metodologia delineou-se o trabalho (Tabela 1).

Tempo = 0,05- 3,5 min.

Temperatura = 75-95°C

Número de Experimentos = $2^n + 2n + 3$

n= Número de variáveis independentes

Variável Dependente: Atividade da enzima pectinametilesterase (velocidade de reação enzima-substrato) expressa em concentração de metanol liberado pela enzima.

Os valores (± 1 , $\pm \alpha$ e 0) são os valores codificados das variáveis independentes, (sendo $X_1 = 1,4$, e "0" o ponto central). Para obter os dados de tempo dos pontos extremos ($-\alpha$, $+\alpha$) se realizam os seguintes cálculos:

Equação 1:

$$-X_1 = 1,36$$

$$-1 = 0,5 \text{ (minutos)}$$

$$0 = (1 \text{ min. } 45 \text{ s})$$

$$+1 = 3 \text{ (minutos)}$$

$$+X_2 = 1,4$$

-1,36	-1	0	+1	+1,4
X ₁	0,5	1'45"	3	X ₂

$$\frac{0+1,36}{105-X_1} = \frac{0+1}{105-30}$$

$$05 - X_1 = 75 * (1,36)$$

$$X_1 = 3 \text{ seg}$$

$$\frac{1,4-0}{1-0} = \frac{X_2-105}{180-105}$$

$$X_2 - 105 = 1,4 * (75)$$

$$X_2 = 210 \text{ seg}$$

Da mesma forma, só mudando os valores da equação 1, vão se obter os valores extremos (X₁ e X₂) da temperatura. Os valores médios (-1 +1) de tempo e temperatura se obtém das médias dos valores propostos para o experimento. Os níveis codificados e não codificados que representam os valores maiores e menores das variáveis independentes são apresentados na TABELA 1.

Tabela 2- Níveis reais e codificados das variáveis independentes no delineamento experimental

Variáveis	Níveis				
	Valor máximo	Ponto fatorial	Ponto central	Ponto fatorial	Valor mínimo
	+1,4	+1	0	-1	-1,36
Tempo (min)	3,5	3	1,45	0,5	0,05
Temperatura (°C)	95	92	85	78	75

Com os valores dos níveis apresentados na TABELA 2 foi feito o delineamento dos 11 experimentos apresentados na tabela 3.

Tabela 3- Níveis codificados e não codificados dos 11 experimentos

Parâmetros codificados		Parâmetros não codificados	
X1(tempo min.)	X2(Temperatura °C)	X1	X2
-	-	0,5	78
+	-	3	78
-	+	0,5	92
+	+	3	92
-1,36	0	0,05	85
+1,4	0	3,5	85
0	-1,36	1,45	75
0	+1,4	1,45	95
0	0	1,45	85
0	0	1,45	85
0	0	1,45	85

Os dados da tabela 2 apresentam os valores reais dos 11 experimentos que foram delineados pelo modelo de superfície de resposta

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de concentração de metanol foram obtidos através da leitura no espectrofotômetro a 412 nm. O índice de correlação da curva padrão de metanol foi de 0,9956. Com os dados obtidos na curva padrão a partir dos valores de absorbância, obtiveram-se os valores de concentração de metanol.

Foi utilizada a seguinte equação:

$$y = ax + b, \text{ onde:}$$

y= Valor de absorbância da amostra

a= Valor da inclinação (dado fornecido pelo software adaptado no espectrofotômetro)

b= Valor de A int.(fornecido pelo softer)

x=. Concentração de metanol ug/ ml

A diluição da amostra foi 1:6. Os resultados de atividade enzimática foram obtidos, após os cálculos prévios de concentração de metanol da forma sugerida pelo método de WOOD *et al*, 1971.

A TABELA 4 apresenta valores descodificados das variáveis independentes (tempo vs temperatura), e valores dos resultados da variável dependente (concentração de metanol liberado ug/ml). A concentração de metanol descreve a velocidade de reação enzima – substrato.

Tabela 4- Variáveis independentes (tempo e temperatura x Concentração de metanol .
 Atividade da PME (velocidade de reação enzima- substrato) descrita pela concentração de
 metanol liberado em função do tempo de tratamento.

<u>Variáveis</u>		<u>Resposta</u>	
tempo(min)	Temperatura(°C)	(conc. metanol) (ug/ml)	Atividade (enzima- substrato) (ug/ml/min)
0,5	78	0,55	8,8
3	78	0,31	0,83
0,5	92	0,76	12,20
3	92	0,78	2,08
0,05	85	0,67	107
3,5	85	0,01	0,02
1,45	75	1,81	9,98
1,45	95	1,45	8
1,45	85	0,81	4,47
1,45	85	0,74	4,08
1,45	85	0,60	3,31

Os valores de concentração da terceira coluna foram utilizados para fazer todos os cálculos e gráficos. Para converter os valores obtidos de concentração de metanol em velocidade de reação da (enzima - substrato) utilizou-se um fator extraído do método de WOOD *et al* 1971 e expressou-se a velocidade de reação da PME como (ug/ml/min).

$$\text{Velocidade de reação da PME} = \frac{\text{CM} \times \text{VT} \times t_1}{\text{AA} \times \text{VA} \times t_2} = \frac{\text{ug/ml} \times 8 \text{ ml} \times 1 \text{ min}}{0,5 \text{ ml} \times 2 \text{ ml} \times t \text{ (min)}}$$

CM = Concentração de metanol ug/ml. Obtida da diferença entre a concentração da amostra com o controle

VT = Volume total 8 ml (4 ml amostra, 2 ml solução de pectina, 4 ml solução tampão submetida a tratamento). Na amostra controle foi substituída a solução de pectina por água destilada.

t₁ = 1 minuto

AA = Aliquota de amostra utilizada para determinação de metanol (0,5 ml)

VA = Volume de amostra (2 ml)

t₂ = tempo de duração do tratamento térmico

Os resultados dos 11 tratamentos foram avaliados segundo o método estatístico de superfície de resposta

Tabela 5- VARIÁVEIS E EFEITOS

Variáveis	Principais efeitos
Mean/interac.	0,735838
(1)TEMPO_A (L)	-0,275422
TEMPO_A (Q)	-0,0622771
(2)TEMPERAT(L)	0,034849
TEMPERAT(Q)	0,725632
1L X 2L	0,130000

A tabela 5 apresenta as variáveis independentes e os principais efeitos, os efeitos destacados com vermelho são os efeitos significativos do estudo, correspondem a efeitos de segunda ordem.

Os valores da equação que descreve o modelo estatístico estão apresentados na TABELA 6

$$y = 0,74 - 0,32t^2 + 0,36 T^2.$$

t= tempo

T= Temperatura

Tabela 6- Principais efeitos e coeficientes de correlação

Principais efeitos	Coefficiente de correlação
Mean/Interc.	0,738915
TEMPO_A (Q)	-0,316301
TEMPERAT(Q)	0,36247

Tabela 7- Principais fatores e seus resíduos

Principais Fatores	Resíduos
TEMPO_A (Q)	0,530336
TEMPERAT(Q)	0,697135
Falta de Ajuste	0,721887
Error puro	0,022867
Resíduos totais	2,423164

A tabela 7 apresenta os valores que foram utilizados para a análise de variância (destacados em vermelho).

No análise de variância (ANOVA), concluiu-se que a equação modelo descrita na TABELA 6 não é preditiva pela falta de ajuste do experimento, e que esta falta de ajuste pode ser devido ao comportamento irregular da enzima na faixa de tempo e temperatura estudada.

Tabela 8- Análise de variância das funções de resposta

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F(cal)	F(Tab.)	R ²
Regressão	1,7242	3	0,5747	5,75	4,35	0,69
Resíduos	0,6990	7	0,0999			
Falta de Ajuste	0,7219	5	0,1444	12,56	19,3	
Erro Puro	0,0229	2	0,0115			
Total	2,4232	10	0,2423			

SQ- Soma quadrática

GL- Graus de liberdade

MQ- Média quadrática.

Os valores de F(calculado) e F(Tabelado) apresentados na TABELA 8 são importantes parâmetros para determinar se o delineamento experimental representa um modelo preditivo.

A equação encontrada neste modelo estatístico não é preditiva pois os valores de F calculado e F tabelado apresentados na TABELA 8 são muito próximos. O valor de F calculado tem que ser pelo menos três vezes maior que o valor do F (Tabelado) para considerar a equação descrita pela TABELA 2 como preditiva

Nas figuras 1,2,3 apresenta-se a quantidade de metanol liberado pela enzima PME nas diferentes condições de tempo e temperatura.

Na figura 1 podemos observar as histogramas que representam as variáveis lineares, quadráticas e as suas interações. Quando as histogramas atravessam o ponto central (0,5)

representam que as variáveis são significativas. O efeito linear de tempo não foi significativo embora o histograma esteja próximo ao ponto central.

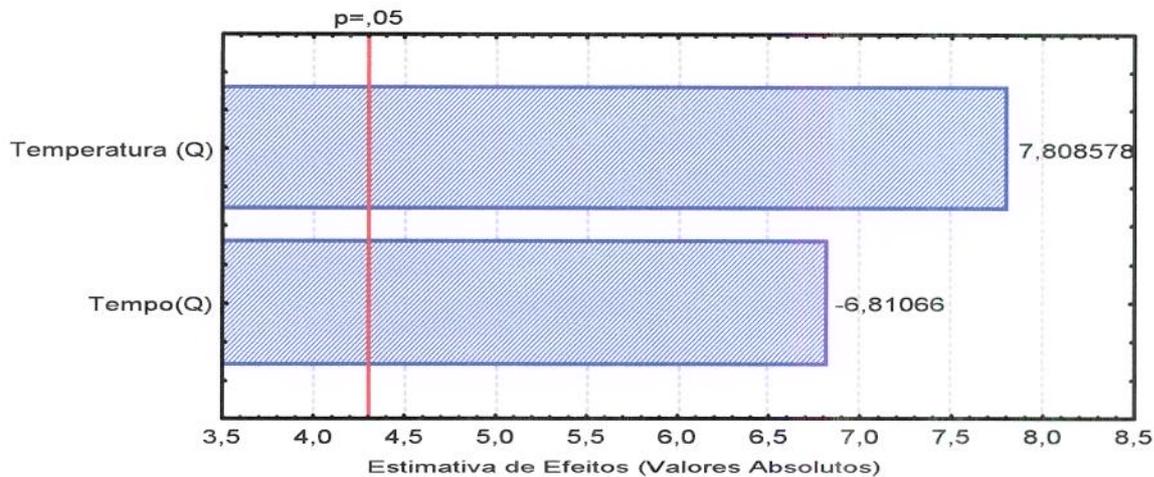


Figura 1- Pareto

Os efeitos quadráticos de tempo e temperaturas foram significativos. A temperatura linear não foi significativa. As interações tempo e temperatura não foram significativas.

Na figura 2 se apresenta melhor o comportamento real da enzima na faixa de estudo. Quando a enzima foi tratada a 78°C a quantidade de metanol liberada foi alta. A 85°C, com aumento da temperatura, a concentração de metanol diminuiu, voltando a aumentar quando submetida a 92°C e 95°C.

Em relação ao tempo a atividade enzimática também foi irregular. Em tempos de tratamento maiores (3 - 3,5min), a enzima liberou menor quantidade de metanol, em tempos intermediários (1'45min) as concentrações de metanol liberados eram ainda menores, mas em tempos inferiores (0,05 - 0,5 min) as concentrações de metanol voltaram a aumentar.

Na figura 3 se apresenta mais claramente o comportamento irregular da enzima na faixa de tempo e temperatura de estudo. Na faixa central em 85°C observamos o diferente comportamento de atividade da enzima a diferentes tempos na mesma temperatura. Nos tempos menores (0,05 min) a atividade da enzima é menor, aumentando em tempos intermediários (1,45 min) e voltando a diminuir em tempos maiores (3- 3,5 min) onde se observa as menores atividades de enzima neste estudo.

Atividade de pectinametilesterase

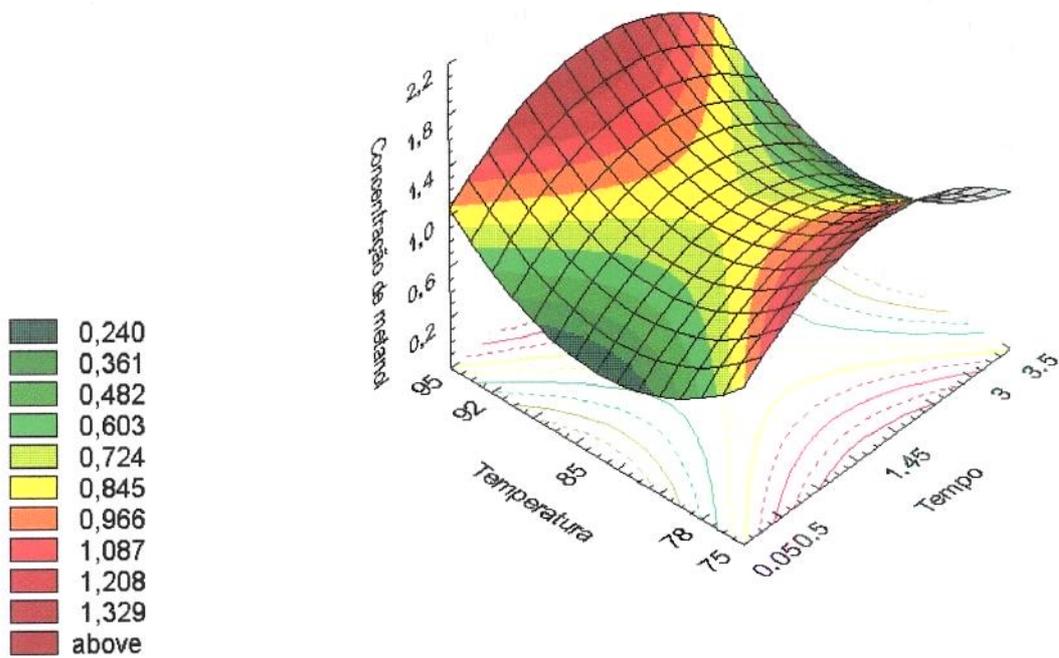


Figura 2- Superfície de resposta referente à concentração de metanol em função do tempo e da temperatura.

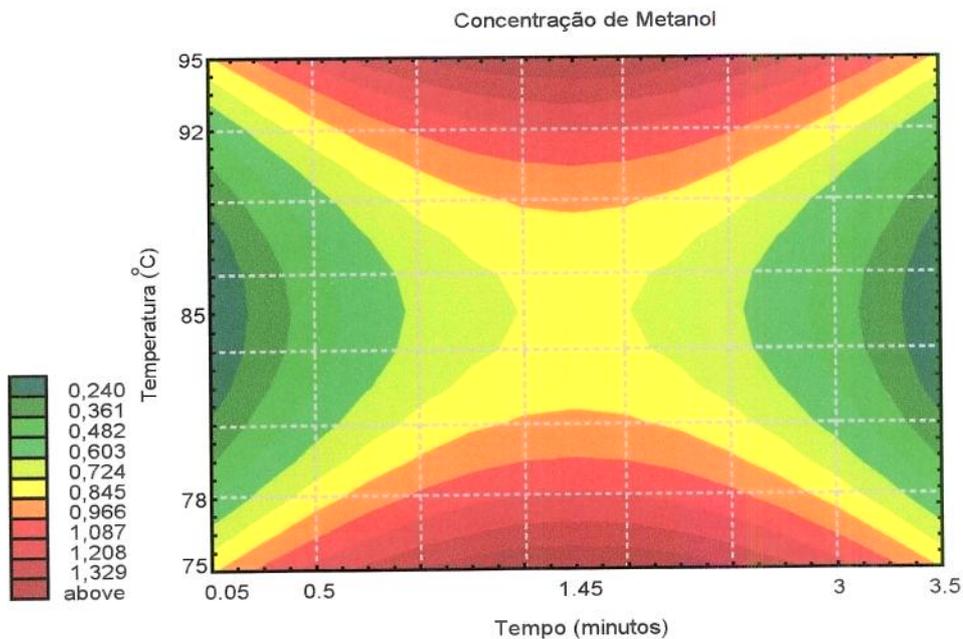


Figura 3 : Superfície de contorno referente à concentração de metanol em função do tempo e da temperatura.

ATIVIDADE ENZIMÁTICA RESIDUAL DA PECTINAMETILESTERASE

Após realizados os 11 experimentos e encontradas as melhores condições de tempo e temperatura que inibiam o efeito demetoxilante da PME, foram feitas as análises da atividade residual da PME.

As TABELAS 9 e 10 apresentam os dados dos experimentos realizados com a finalidade de comprovar o comportamento da enzima a 85°C. Os dados destas tabelas são descritos nas figuras (6,7).

A TABELA 9-10 apresentam os valores de atividade enzimática do primeiro e do segundo experimento. Estes valores de atividade foram obtidos após tratamento térmico de (85°C), em uma faixa de tempo entre 4 e 5 minutos. Após o tratamento, as amostras foram incubadas à 30°C pôr 1h. As condições de análise de liberação de metanol foram as mesmas ocorridas no experimento do delineamento estatístico. com uma pequena modificação descrita anteriormente.

Os valores de concentração de metanol apresentados na tabela 9-10, são obtidos dos valores de absorbância.

Os valores de atividade residual de enzima pectinametilsterase ($\mu\text{g/ml/min}$) são obtidos a partir dos dados de concentração de metanol liberado pela enzima.

As tabelas 9-10 representam a influência do tempo (1-4 minutos) de tratamento térmico sobre a atividade residual da enzima pectinametilsterase. A temperatura do choque térmico para todos os tratamentos foi de 85°C. Todas as amostras após tratamentos foram incubadas a 30°C pôr 1 hora

TABELA 9- Efeito do tempo na atividade enzimática a 85°C. Valores do experimento 1

tempo/min	Concentração de Metanol liberado ($\mu\text{g/ml}$)	Atividade residual da enzima ($\mu\text{g/ml/min}$)
Controle *	1,44	0,192
1	0,25	0,033
2	0,06	0,008
3	0,01	0,001
4	0,32	0,04

* Sem tratamento térmico

TABELA 10- Efeito do tempo na atividade enzimática a 85°C. Valores do experimento 2

tempo/min	Concentração de Metanol liberado ($\mu\text{g/ml}$)	Atividade residual da enzima ($\mu\text{g/ml/min}$)
Controle *	4,74	0,632
1	1,14	0,1520
2	0,72	0,096
4	0,84	0,112
5	2,64	0,352

* Sem tratamento térmico.

Analisando as tabelas 9 e 10 podemos perceber que a concentração de metanol liberado é diretamente proporcional à atividade residual da enzima. As menores atividades de PME encontradas neste estudo, $0,001\mu\text{g/ml/min}$ e $0,008\mu\text{g/ml/min}$, (1×10^{-3} e 8×10^{-3} respectivamente) foram comparadas com as obtidas por CASTALDO *et al*, (1997) que mediu atividade de PME em suco de abacaxi processado. As figuras (4,5) obtidas do trabalho de CASTALDO *et al*, (1997) manifestam o efeito da atividade da PME sobre a estabilização do suco.

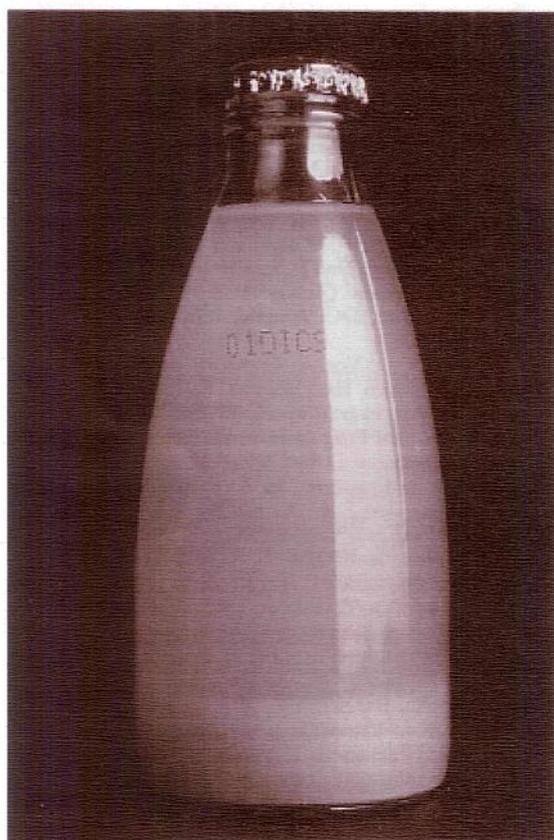


Figura 4: Suco de abacaxi com atividade residual de PME $4,1 \times 10^{-4}$ U/ml



Figura 5: Suco de abacaxi com atividade residual de PME $7,1 \times 10^{-3}$ U/ml

De acordo ao descrito nas figuras 4 e 5 do estudo de CASTALDO *et al*, (1997), os resultados obtidos em nosso trabalho de atividade residual da PME sugerem que nenhuma das condições de tempo e temperatura estudadas asseguram a não sedimentação do suco de abacaxi, e que só atividades residuais da enzima acima da terceira casa decimal podem garantir uma melhor estabilização dos sucos, retardando a sedimentação. O mesmo autor reportou atividades de PME em quatro sucos de abacaxis processados de marcas diferentes, sendo que das 18 amostras analisadas de sucos de sete frutos diferentes, os sucos de abacaxi foram os únicos que apresentaram atividade residual de PME.

As figuras 6 e 7 descrevem um comportamento parabólico da atividade residual da PME e sugerem a hipótese da presença de uma isoenzima no suco de abacaxi que aparentemente é ativada após o terceiro minuto de tratamento do suco a 85°C, aumentando desta maneira a atividade da PME. O mesmo comportamento não linear foi observado nos ensaios de determinação de velocidade de reação enzima- substrato figura (1,2,3)

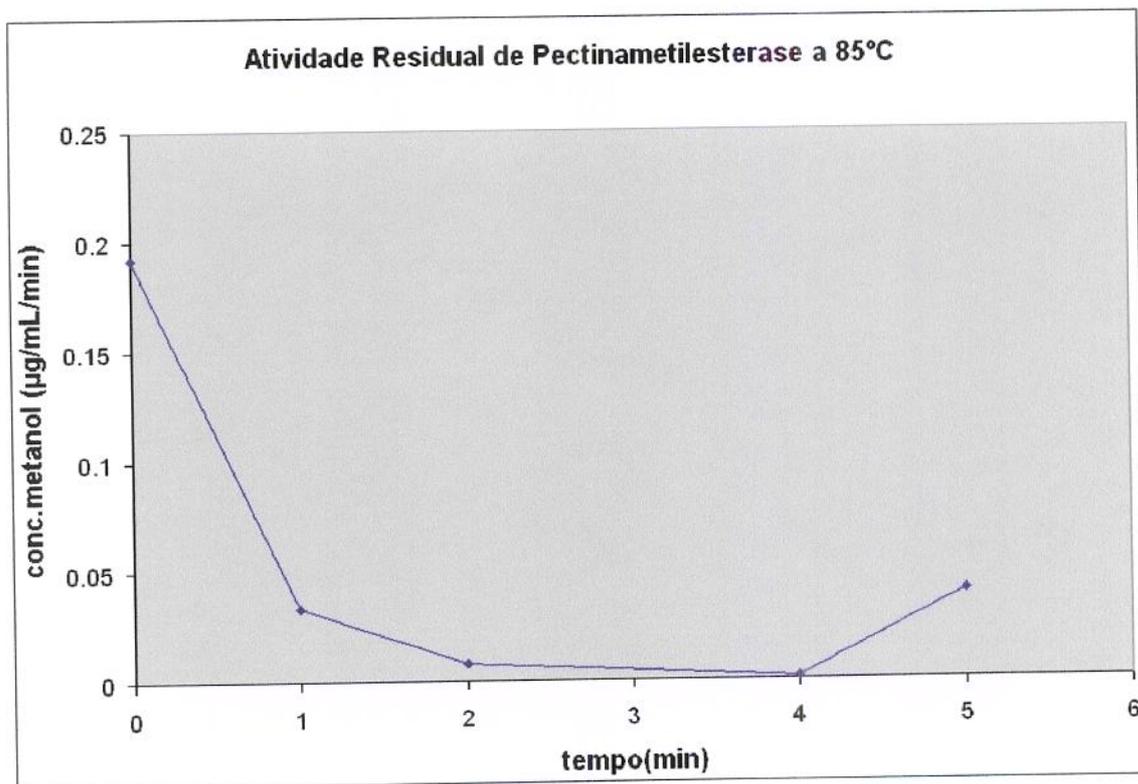


Figura 6- Atividade Residual da enzima pectinametilesterase

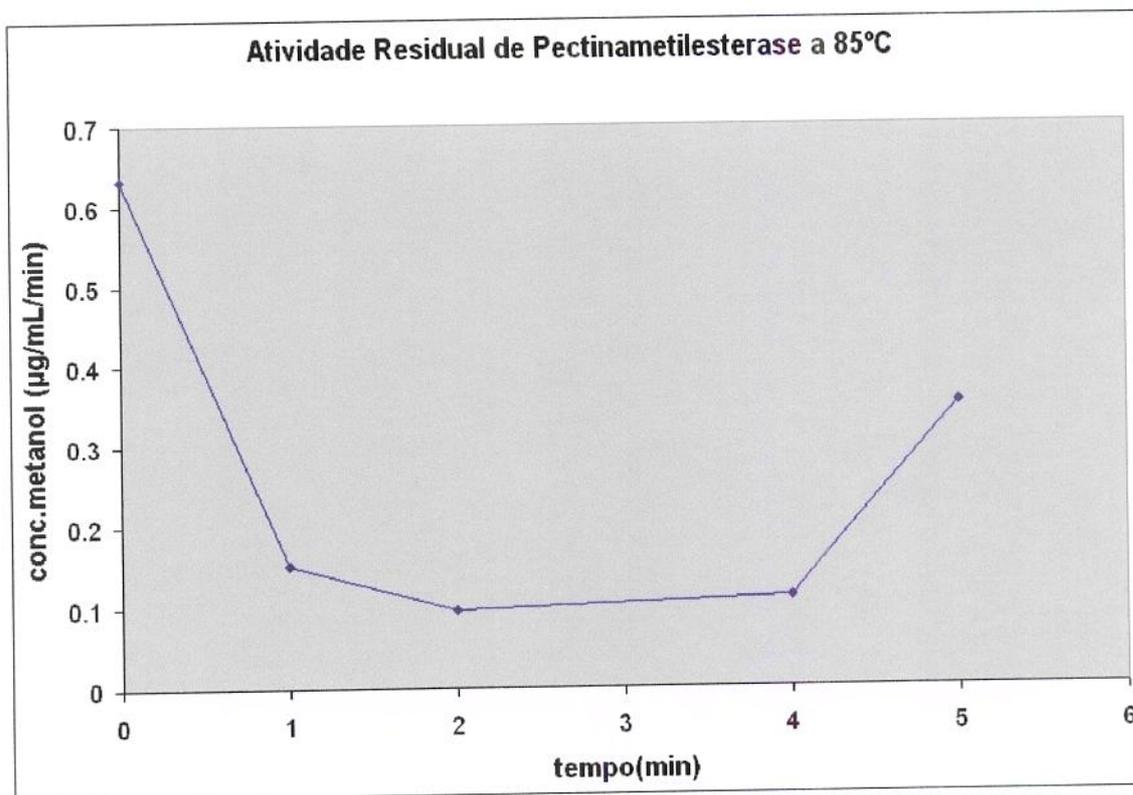


Figura 7- Atividade Residual da enzima pectinametilesterase. Experimento 2.

AMSTALDEM (1995) apresenta em seu estudo com suco de laranja, atividades de enzima pectinesterase com diferentes termorresistências e os resultados sugerem a presença de uma fração termosensível e outra termorresistente. LARATTA *et al* (1995) estudaram três frações purificadas de pectinametilesterase em tomate, duas das três frações possuíam maior estabilidade térmica. CAMERON (1995) estudou quatro frações parcialmente purificadas de pectinametilesterase presente em “grapefruit” e achou diferentes termorresistências entre uma e outra fração.

GHERARDI (1994) detectou a presença de pectinametilesterase no suco de abacaxi, e mediu a atividade residual, encontrando atividade de enzima em tratamentos maiores de 100°C. A termorresistência foi atribuída à presença de um isômero glicosilado da enzima.

Estudos em produtos vegetais têm comprovado que pectinesterases endógenas são ativadas a 76°C e completamente inativadas a 87°C (MONTGOMERY, 1991). Este argumento pode sustentar a hipótese formulada e explicar o que aconteceu em nosso estudo. A 75°C, uma fração de enzima pectinametilesterase começou a se ativar e iniciou-se a

hidrólise; a 85°C a atividade desta fração começou a diminuir, até praticamente não ter mais atividade; subitamente se apresentaram atividades enzimáticas em tempos maiores de 4 minutos (ensaios de atividade residual) e a temperaturas maiores a 85°C, (ensaio de velocidade de reação enzima-substrato), nos dois casos a enzima teve um comportamento não linear em relação a inativação da enzima nas condições preestabelecidas de tempo e temperatura, isto pode ser devido à ativação de outra ou outras frações de pectinametilsterase com estabilidade térmica maior.

Não existem dados na bibliografia sobre o isolamento ou purificação de frações de pectinametilsterase termoestável no suco ou fruto de abacaxi, embora sua presença no suco já foi estudada por (GHERARDI et al 1994, CASTALDO et al 1997). Existe a possibilidade que a presença de uma ou mais frações de isômeros de PME sejam responsáveis pelo comportamento de inativação não linear da enzima, quando submetidas a tratamentos térmicos.

5 CONCLUSÕES

Os resultados apresentam um comportamento parabólico da enzima pectinametilsterase e sugerem a presença de frações de PME termoestável. Isto foi observado tanto no estudo da atividade da enzima (velocidade de reação enzima - substrato) como no estudo de atividade residual da enzima. Os valores das atividades residuais de enzima (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ug/ml/min) obtidos neste trabalho, quando comparadas aos valores de atividade (10^{-3} , 10^{-4}) reportados por CASTALDO *et al* (1994) supõem que o "mill juice" tem pouca estabilidade e sedimenta rápido, o que foi verificado por observações visuais.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONSO, J., HOWELL, N., CANET, W., Purification and Characterisation of two pectinmethylesterase from Persimmon (*Diospyros kaki*) J. Sci. Food Agric. v. 75, p. 352-358, 1997.
- AMSTALDEM, L.C., MONTGOMERY, M.W., Pectinesterase em suco de laranja: efeito do tratamento térmico Ciênc. Tecnol. Aliment. v. 15, n. 1, p. 50-53, 1995.
- ARTEAGA, G.E., LI-CHAN, E., VASQUEZ-ARTEAGA, M.C, *et al.* Systematic experimental designs for product formula optimization Trends in food science and technology Cambridge, v.5, n.8, p. 243-254, 1994.
- ASKAR, A; TREPTON, H. Cloud stable premium nectars made from tropical fruits. Confructa Studien , v.36 n.5, p. 24-25, 1992.
- BAKER, R.A., WICKER, L., Current and potential applications of enzyme infusion in the food industry Trends in Food Science & Technology. v. 7, p. 279-284, 1996.
- BARRET, D.M., GONZALEZ, C., Activity of softening enzymes during cherry maturation , Journal of Food Science, v. 59, n. 3, 1994.
- BIGNON, J., Cold pasteurizers hiperbar for the satabilization of fresh fruit juices Fruit Processing, v. 6, n. 2, p. 46-48, 1996.
- BINNING, R., Light Colour- stable cloudy apple juices Confructa Studien v.6, n. 3, 1992.
- CAMEROGLU, B., Heat inactivation kinetics of Pectin Methylesterase from orange and grapefruit peels-peroxidase as an indicator of peel blanching Fruit Processing, v. 8, n. 4, p. 158-161, 1998.
- CAMERON, R.G., BAKER, R.A., GROHMANN., Multiple forms of pectinmethylesterase from citrus peel and their effects on juice cloud stability Journal of Food Science v. 63, n.2, p. 253-255, 1998.

- CAMERON, R.G., GROHMANN, K., Partial purification and thermal characterization of pectinmethylesterase from red grapefruit finisher pulp. Journal of food science , v.60, n.4, p. 821-824. 1995.
- CAMERON, R.G., NIEDZ, R.P., GROHMANN, K., Variable heat stability for multiple forms of pectin methylesterase from citrus tissue culture cells J. Agric. food Chem. v. 42, n. 4, p. 903-908, 1994.
- CARLE, R., Cloud stability of pulp-containing tropical fruit nectars Fruit Processing v. 8, n. 7, p. 266-272, 1998.
- CASTALDO, D., LARATA, B., LOUIDICE, R., GIOVANE, A , QUAGLIULO, L., SERVILLO, L. Presence pf residual pectin methylesterase activity in thermally stabilized industrial fruit preparation. Labensm-Wiss Technol , v 30, p. 479-484, 1997.
- CASTALDO, D., LOUIDICE, R., QUAGLIULO, L., SERVILLO, L., BALESTRIERI, C., GIOVANE, A., Raphid method for preparing a pectin methylesterase inhibitor from kiwifruit Industria Conserve, v. 66, p. 238-241, 1991.
- DE SIO, F., DIPOLLINA, G., VILLARI, G., LOIUDICE, R., LARATTA, B., CASTALDO, D., Thermal resistance of pectin methylesterase in tomato juice, Food Chemistry, v. 52, p. 135-138, 1995.
- FOGARTY, W.M., WARD, O.P., Pectic substances and pectinolytic enzymes. Process Biochemistry , n 8, p. 13-17, 1972.
- GHERARDI, S., LARATTA, B., LOUIDICE, R., TRIFIRO, A., ADDARIO, G., ZANOTTI, A., CASTALDO, D. Sulla tecnologia di produzione del succo di ananas: composizione del succo e termoresistenza della pectin-metilesterasi Industrie Conserve , v. 69 p. 199-203, 1994.
- GIOVANE, A., LARATTA, B., LOIUDICE, R., QUAGLIUOLO, L., CASTALDO, D., SERVILLO, L., Determination of residual pectin methylesterase activity in food products, Biotechnol. Appl. Biochem. v. 23, p. 181-184, 1996.
- HOLLAND, R.R., REEDER, S.K., PRITCHETH, D.E., Cloud stability test for pasteurized citrus juices, Journal od Food Science v. 41, p. 812-815, 1976.
- JANSER, E., Enzyme applications for tropical fruits and citrus Fruit Processing v. 10, p. 388-393, 1997.
- LABIB, A.A.S., EL-ASHWAH, F.A., OMRAN, H.T., ASKAR, A., Heat- inactivation of mango pectinesterase and poligalacturonase, Food Chemistry, v. 53, p. 137-142, 1995.
- LARATA, B., LOUIDICE, R., GIOVANE , A, QUAGLIULO, L., SERVILLO, L., CASTALDO, D., Thermostability of three pectinesterase isoenzymes in tomato fruit. Food Chemistry , v.52, p. 415-418. 1995.
- MACDONALD, H.M., EVANS, R., Purification and properties of apple pectinesterase, J. Sci. Food Agric. v. 70, p. 321-326, 1996.

- MONTAÑEZ, J.L., JIMENEZ, A., Cinética de las enzimas pécticas: I: Comparación entre una enzima poligalacturónica de origen fungal y una de origen vegetal Rev. Tecnol. Aliment (Mex.), v. XVII, n. 6, p. 10-18
- MONTGMOMERY, M., Enzimas importantes no processamento de alimentos In: Manual Técnico do Ital , p. 23-36., 1991.
- SAVITCI, L.A., GASPARINO FILHO, J., MORETTI, V.A. Perfil Industrial e de Mercado para Suco de Abacaxi. Colet. Ital, v. 25, n.2, p. 153-168, 1995.
- SNIR, R., KOEHLER, P.E., SIMSK., WICKER, L., Total and thermostable pectinesterases in citrus juices. Journal of Food Science , v.61, n. 2, p. 379-382. 1996.
- TISSEAU, R., Valorisation de déchets de conserverie d'ananas. Possibilités d'extraction de bromeline Fruits, v. 41, n. 12, p. 703-708, 1986.
- WOOD, P.J., SIDDIQUI, I.R., Determination of methanol and its application to measurement of pectin ester content and pectin methyl esterase activity, Analytical Biochemistry , v. 39, p. 418-428, 1971.

CONCLUSÕES GERAIS

As conclusões em relação à caracterização do “mill juice” foram:

Conclui-se que o “*mill juice*” (suco extraído e pasteurizado das cascas, extremidades e miolo do abacaxi) tinha uma composição muito similar aos sucos comerciais feitos de polpa de abacaxi, e que os principais parâmetros que podiam estabelecer diferença significativa entre eles eram: porcentagem de açúcares totais (principalmente açúcares não redutores) e carboidratos totais. Em relação a cor, de acordo aos resultados apresentados nas tabelas e observações qualitativas concluímos que o suco de cascas possuía menos luminosidade (é mais turvo) que o suco de abacaxi comercial utilizado como controle.

Em relação aos parâmetros microbiológicos avaliados (bolores e leveduras, coliformes totais e fecais, contagem de esporos de fungos termorresistentes) concluiu-se que o “mill juice” obtido após pasteurização a 91,5°C por 30 segundos estava dentro dos limites aceitáveis de acordo aos códigos brasileiros e do CODEX internacional e que foi um produto inócuo do ponto de vista microbiológico. Foi também estudado o efeito do cloro ativo 5 ppm e 100ppm utilizadas na etapa de lavagem do abacaxi, e concluiu-se que não tiveram influência na eliminação nem redução de esporos de fungos termorresistentes.

A tecnologia de germinação proposta para reduzir as contagens de fungos termorressitentes teve relativo sucesso e concluiu-se ao relacionar 73% dos tratamentos com os seus controles que a metodologia alternativa proposta, reduziu as contagens.

Neste trabalho também foram determinadas as concentrações de resíduos de pesticidas presentes no suco “mill juice” após o processamento, sendo avaliados os efeitos das etapas na degradação ou concentração dos mesmos. Conclui-se que todas as amostras de suco e o bagaço estavam próprias para consumo humano e ração animal, respectivamente, em relação a legislação brasileira de resíduos de pesticidas (Paration metílico 0,2 mg/kg e Diuron 0,1 mg/kg) (BRASIL, 1994). Os resultados indicavam que a casca do abacaxi atua como sistema de proteção à penetração deste pesticida. e que nem sempre o processamento promovia degradação dos resíduos de pesticidas.

Outro aspecto que também foi estudado neste trabalho foi a influencia do tratamento de homogeneização a pressão, hidrólise enzmática da goma nativa, e atividade da pectinametilesterase do “mill juice” em relação à estabilidade das partículas em suspensão.

Após homogeneização a aparência do suco melhorou notavelmente. A viscosidade aparente das amostras (homogeneizadas e não homogeneizadas) foi superior em sucos com maior teor de polpa em relação aos de menor teor. A morfologia celular das fibras do abacaxi foi modificada (de ovóides para esticadas). O $Ko^{1/2}$ (tensão inicial), segundo dados quantitativos comparados com observações qualitativas, demonstrou ser um parâmetro de avaliação da tendência das partículas suspensas do “mill juice” à sedimentação. Valores de tensão inicial maior indicaram menor tendência à sedimentação que seus respectivos valores menores. Todos os sucos de subprodutos do “mill juice” homogeneizados e não homogeneizados sedimentaram.

Para esclarecer o fenômeno da sedimentação também foram estudadas as gomas nativas do “mill juice”. As gomas foram hidrolisadas com diferentes concentrações de enzima pura e posteriormente avaliados os efeitos da hidrólise sobre a sedimentação e propriedades reológicas do “mill juice”. A viscosidade aparente apresentou uma considerável diminuição quando utilizadas menores concentrações de enzima (0,03%- 0,3%). Todas as amostras de “mill juice” hidrolisadas também sedimentaram. Neste estudo referente a gomas nativas presentes no suco, os resultados do trabalho sugerem algumas hipóteses que precisam ser confirmadas, principalmente em relação a utilização do parâmetro de $(Ko)^{1/2}$, como parâmetro para medir as tendências de sedimentação do suco,

Finalmente foi estudado o efeito da ação da pectinametilesterase (PME) sobre a sedimentação das partículas. Os resultados apresentaram um comportamento parabólico da enzima pectinametilesterase e sugerem a presença de frações de PME termoestável. Isto foi observado tanto no estudo da atividade da enzima (velocidade de reação enzima - substrato) como no estudo de atividade residual da enzima. Os valores das atividades residuais de enzima (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ug/ml/min) obtidos neste trabalho, quando comparadas aos valores de atividade (10^{-3} , 10^{-4}) reportados por CASTALDO *et al* (1994) supõem que o “mill juice” tem pouca estabilidade e sedimenta rápido, o que foi verificado por observações visuais.

SUGESTÕES

Pode ser testado a utilização de suco clarificado o filtrado de “mill juice” para blending com outros sucos, elaboração de xaropes, como matéria prima para elaboração de néctares ou bebidas de frutas, etc. Deveria ser feito uma análise sensorial do “mill juice”.

Poderia ser otimizada a etapa de lavagem do abacaxi para reduzir microrganismos e resíduos de pesticidas que são retidos nas ceras presentes nas cascas do abacaxi.

Devido à tendência mundial de consumo de sucos *in natura* é importante que sejam estabelecidos padrões que estabeleçam um máximo do limite de microrganismos para sucos de abacaxi e outras frutas tropicais.

Estudos conjuntos dos diferentes processos (hidrólise, homogeneização) são necessários para entender melhor o fenômeno da sedimentação. Tratamentos alternativos que reduzam a atividade da PME sem o uso de temperaturas altas deveriam ser propostos e avaliados.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DA INTRODUÇÃO GERAL

APV- GAULIN- Processing Report. 1982. Manton- Gaulin Manufacturing Co., INC.

APV: Food & Drink, Peterborough, England, April, p. 4 , 1996

ASKAR, A; TREPTOW, H. Cloud stable premium nectars made from tropical fruits. Confructa Studien , v.36 n.5, p. 24-25, 1992.

CAMERON, R.G., GROHMANN, K., Partial purification and thermal characterization of pectinamethylesterase from red grapefruit finisher pulp. Journal of food science , v. 60, n. 4, p. 821-824. 1995.

CARLE, R., Cloud stability of pulp-containing tropical fruit nectars Fruit Processing v. 8, n. 7, p. 266-272, 1998.

CASTALDO, D., LOUDICE, R., QUAGLIULO, L., SERVILLO, L., BALESTRIERI, C., GIOVANE, A., Raphid method for preparing a pectin methylesterase inhibitor from kiwifruit Industria Conserve, v. 66, p. 238-241, 1991.

CHALFOUN, S.M., A abacaxicultura brasileira e o mercado globalizado Informe Agropecuário, v. 19, n. 195, p. 5-6, 1998.

CHENCHIN, K.L., YUGAWA, A., YAMAMOTO, H.J. Enzymic degumming of pineapple and pineapple mill juices Journal of food science , v.49, p.1327-1329, 1984.

FAO. Disponível: site FAO <http://apps.fao.org/lim500/nph-wrap.pl> Consultado em 4 ago. 1998.

FERREIRA, F.R., SANTOS, J.R., Melhoramento Genético do Abacaxizeiro Informe Agropecuário, v. 19, n. 195, p. 24-28, 1998.

GHERARDI, S., LARATTA, B., LOUIDICE, R., TRIFIRO, A., ADDARIO, G., ZANOTTI, A., CASTALDO, D. Sulla tecnologia di produzione del succo di ananas: composizione del succo e termoresistenza della pectin-metilesterasi Industrie Conserve , v. 69 p. 199-203, 1994.

- HODGSON, S.A., HODGSON, R.L. Pineapple juice In: Nagy, S., Chen, S.CH., & Shaw, E.P. Fruit Juice Processing Technology, Auburndale: Agscience Inc. 1993. cap 11., p. 378-434.
- CARVALHO, L.M., SILVA, C.B, PIERUCCI, A.P., Clarification of pineapple juice (*Ananas comosus* L Merryl) by ultrafiltration and microfiltration: Physicochemical evaluation of clarified juices, soft drink formulation, and sensorial evaluation J. Agric. Food Chem. v. 46, n. 6, p. 2185-2189, 1998.
- JANSER, E., Enzyme applications for tropical fruits and citrus Fruit Processing v. 10, p. 388-393, 1997.
- KOTZEKIDOU, P., Heat resistance of bissochlamys nivea, bissochlamys fulva and neosartorya fischeri isolated from canned tomato paste. Journal of Food Science v.62, n.2, p. 410-412, 1997.
- LOILLET, D., O mercado internacional do abacaxi fresco e transformado Informe Agropecuário, v. 19, n. 195, p. 86, 1998.
- CARVALHO, V.D., PATTO, C.M., GONÇALVES, N.B., Qualidade e Industrialização do Abacaxi Informe Agropecuário, v. 19, n. 195, p. 67-69, 1998.
- MARTIN, J.Z., DE SOUZA, J. A. Jr., DE LARA CARNEVALLI, C. J., HOSHIZUME, T. Processamento : Produtos e subprodutos; características e utilização In: Frutas tropicais v.2, Abacaxi, ITAL, Campinas, p. 95-134, 1978.
- MONTENEGRO, STUDART, W. H., Cultura do abacaxizeiro In: Montenegro, S.W.H., Cantarelli, R.P. Abacaxi. Produção, pré-processamento e transformação agro-industrial. Serie extensão agro-industrial v.2, ITAL, Campinas, p. 1-27, 1982.
- PAIVA, B.M., DE ANDRADE, L.M., Aspectos econômicos da produção e comercialização do abacaxi Informe Agropecuário, v. 19, n. 195, p. 7-11, 1998.
- SNIR, R., KOEHLER, P.E., SIMSK., WICKER, L., Total and thermostable pectinesterases in citrus juices. Journal of food science , v.61, n. 2, p. 379-382. 1996.
- SPROGO, J., COOPER, T., Technologies for high quality and economical processing, Fruit Processing, v.5, p. 166-170, 1997.



O abacaxi