

DANIELY DA ROCHA CORDEIRO DIAS

**EFEITO DO ULTRASSOM EM PARÂMETROS DE
QUALIDADE DO SUCO DE GRAVIOLA**

(*Annona muricata* L.)

Recife, 2014

DANIELY DA ROCHA CORDEIRO DIAS

**EFEITOS DO ULTRASSOM EM PARÂMETROS DE
QUALIDADE DO SUCO DE GRAVIOLA
(*Annona muricata* L.)**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Nutrição do
Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Federal de
Pernambuco, para obtenção do título
de Mestre em Nutrição.

Orientadora: Prof^a Dr^a Patrícia Moreira Azoubel

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Nonete Barbosa Guerra

Recife
2014

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

D541e Dias, Daniely da Rocha Cordeiro.
 Efeito do ultrassom em parâmetros de qualidade do suco de graviola
 (*anonna muricata L.*) / Daniely da Rocha Cordeiro Dias. – Recife: O autor,
 2014.
 75 f. : il. ; 30 cm.

 Orientadora: Patrícia Moreira Azoubel.
 Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco,
 CCS. Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2014.
 Inclui referências e anexos.

 1. Escurecimento enzimático. 2. Polifenoloxidase. 3. Suco de
 graviola. 4. Ultrassom. 5. Qualidade. I. Azoubel, Patrícia Moreira
 (Orientadora). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2014-136)

DANIELY DA ROCHA CORDEIRO DIAS

**EFEITOS DO ULTRASSOM EM PARÂMETROS DE
QUALIDADE DO SUCO DE GRAVIOLA
(*Annona muricata* L.)**

Dissertação aprovada em: 25 de fevereiro de 2014

Prof^a Dr^a Tânia Lúcia Montenegro Stamford
Departamento de Nutrição / UFPE

Prof^a Dr^a Maria Inês Sucupira Maciel
Departamento de Ciências Domésticas / UFRPE

Prof^a Dr^a Fernanda Araújo Honorato
Departamento de Engenharia Química / UFPE

RECIFE
2014

*Ao meu amado filho Daniel
Marinho Costa Neto por sua
preferência pelo “suco
branquinho”, dedico.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, POR TUDO. Por ter me dado saúde, paz, energia, fé e perseverança, pela oportunidade de aprender e conquistar vitórias.

Aos meus pais, Joanita da Rocha Cordeiro e Nelson Francisco Cordeiro. Mainha, graduada, mestre, doutora e pós-doc em educação dos filhos. Não tenho palavras para agradecer o apoio, carinho, incentivo e todo o ensinamento a mim transmitido.

Ao meu esposo, Otávio Dias Costa Neto, pelo companheirismo, amizade, compreensão e incentivo desde o nosso primeiro encontro.

A meu filho, Daniel Marinho Costa Neto, razão de tudo, e a Pedro que está a caminho.

A meus irmãos, Dilian da Rocha Cordeiro, Débora da Rocha Cordeiro Alves e Nilson da Rocha Cordeiro, que estiveram sempre ao meu lado em todos os momentos da minha vida; pelo incentivo, apoio e compreensão durante minhas ausências.

Aos meus cunhados Marcos e José Agaci, e sobrinhos, Ester, Gabriel e Sara, pelo apoio, alegrias, questionamentos (rsrs).

A Universidade Federal de Pernambuco, e ao Curso de Pós-graduação em Nutrição, pela oportunidade de realização do mestrado.

A minha orientadora Patrícia Moreira Azoubel, pela orientação, confiança, paciência, ensinamentos, incentivo, apoio e amizade demonstrada em cada etapa da realização dessa pesquisa. E a Maria, por emprestar sua mãe num momento tão sublime de suas vidas.

A minha co-orientadora Nonete Barbosa Guerra, pelos ensinamentos e experiências compartilhadas.

As professoras Tânia Lúcia Montenegro Stamford, Fernanda Honorato e Maria Inês Sucupira Maciel que gentilmente aceitaram o convite de participar da banca examinadora e pelos comentários e sugestões no sentido de contribuir para a melhoria deste trabalho.

Ao grupo de pesquisa da professora Patrícia: Rafael Medeiros (mestrado) e Carlos Brian (Pibic). Vocês são maravilhosos. Em especial a amiga Zilmar Pimenta (e família), que chegou no finalzinho e foi fundamental para essa conquista. Obrigada por dividir suas experiências comigo.

A professora Luciana Leite (UFRPE), pela colaboração e ensinamentos.

Aos professores que fazem parte do LEAAL, em especial as professoras Karina Silveira e Margarida Angélica Vasconcelos, por compartilhar ensinamentos, experiências e pela amizade.

Ao Departamento de Engenharia Química – CTG/UFPE em especial aos professores Otidene Rocha, Fernanda Honorato, Maurício Motta e Glória Vinhas, pela disponibilidade de uso dos laboratórios e equipamentos.

Aos técnicos e doutorandos dos laboratórios do DEQ: Gisele, Ana, Andreza e Luís, muito obrigada.

As colegas da UFRPE, Jacqueline Andrade e Náira Moura. Obrigada por dividirem seus conhecimentos.

Aos colegas do curso de mestrado em nutrição da UFPE 2012. Valeu as lágrimas e as gargalhadas.

Ao LEAAL pela disponibilização dos laboratórios, em especial aos técnicos da microbiologia Vivaldo Araújo e Suelen Souza. Obrigada por tudo!

Ao técnico do LEAAL Camilo, pelas orientações e indicações na aquisição de nossa matéria-prima.

A fábrica de polpas Fresh Fruit, nas pessoas de Regis e Marcos, que forneceram a matéria-prima com muita presteza e solicitude. Sem vocês esta pesquisa não aconteceria.

A coordenação e aos professores do curso da Pós-graduação em Nutrição da UFPE, em especial a Neco e Cecília, sem vocês nós, mestrandos, estaríamos perdidos (rsrs).

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que de alguma forma contribuíram para este trabalho, meu muito, muito, muito obrigada.

RESUMO

A graviola é uma fruta tropical apreciada pelo seu agradável sabor e por ter qualidades sensoriais que permitem sua utilização *in natura*, bem como na agroindústria, onde é usada no preparo de sucos, sorvetes, néctar, entre outros. Contudo, esta fruta é susceptível ao escurecimento enzimático, reação catalisada por enzimas oxidativas, como as polifenoloxidasas (PPO), que interferem desfavoravelmente na cor desses produtos, consistindo em um grande problema para a sua industrialização. O uso do ultrassom é uma alternativa à aplicação do tratamento térmico, tais como a pasteurização e esterilização, que se constituem na forma mais empregada na indústria de alimentos para inativação de enzimas e micro-organismos, mas que podem causar danos em produtos sensíveis a altas temperaturas utilizadas nestes processos. O objetivo deste estudo foi investigar a aplicação do ultrassom em parâmetros de qualidade do suco de graviola através da metodologia da superfície de resposta, avaliando a influência das variáveis intensidade de potência ($75\text{-}373\text{ W/cm}^2$) e tempo de processamento (2-10 min) na atividade residual da enzima polifenoloxidase, temperatura do processamento, teores de fenólicos totais e ácido ascórbico e na coloração do suco. Após o processamento, a atividade residual de PPO no suco foi reduzida em até 15% e obteve-se pequena alteração de cor após a aplicação do ultrassom. O conteúdo de compostos fenólicos em comparação com o suco não sonificado não foi estatisticamente significativo. No entanto, uma boa retenção dos compostos foi obtida (91,4%) na maior intensidade (373 W/cm^2). Houve aumento no teor de ácido ascórbico na maior parte das amostras tratadas. Altas intensidades do ultrassom e maior tempo exposição resultaram em maior aumento da temperatura; contudo esta temperatura foi menor que as encontradas nos processos tradicionais de pasteurização. Sensorialmente, a amostra submetida ao ultrassom foi bem aceita, situando-se nas categorias “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. A tecnologia demonstrou ser adequada para o suco de graviola como alternativa aos tratamentos térmicos, que resulta na perda de qualidade.

Palavras-chave: *Escurecimento enzimático. Polifenoloxidase. Suco de graviola. Ultrassom. Qualidade.*

ABSTRACT

The soursop is a tropical fruit appreciated for its pleasant taste and with sensory qualities that allow its fresh use, as well as in the agroindustry, where it is used in the production of juices, ice creams, nectar, among others. However, this fruit is susceptible to enzymatic browning, reaction catalyzed by oxidative enzymes, such as polyphenol oxidases (PPO), which adversely affect the color of these products, consisting in a major problem for their industrialization. The use of ultrasound is an alternative to the application of heat treatment, such as pasteurization and sterilization, which is the most common and widely employed technique for the inactivation of micro-organisms and enzymes in the food industry and that can cause damage to heat sensitive products to the high temperatures used in these processes. This work had the objective to investigate the effects of ultrasound process on soursop juice quality parameters through the Response Surface Methodology. A two factor central composite design was carried out changing processing time (2-10 min) and ultrasound intensity (75-373 W/cm²). PPO residual activity, temperature increase, color, ascorbic acid and phenolic compounds were the responses analyzed. After processing, the PPO activity in the juice was reduced by almost 15% and color changes observed during sonication was subtle. The effect on phenolic compounds compared to the non-sonicated juice was not statistically significant. However, a good retention of these compounds was obtained (91.4 %) at higher intensity (373 W/cm²). Ascorbic acid content was found to be higher in most of the samples treated. The higher the ultrasound intensity and the juice exposure time, the higher its final temperature. The juice submitted to ultrasound was well accepted, with acceptance values in the categories “like slightly” and “like moderately”. The technology showed to be suitable for soursop juice as alternative to thermal and other treatments that results in quality loss.

Keywords: *Enzymatic browning. Polyphenoloxidase. Soursop juice. Ultrasound. Quality.*

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	12
2.	OBJETIVOS	14
	2.1 Geral	14
	2.2 Específicos	14
3.	REVISÃO DA LITERATURA.....	15
	3.1 GRAVIOLA.....	15
	3.1.1 ASPECTOS BOTÂNICOS.....	15
	3.1.2 ASPECTOS ECONÔMICOS.....	15
	3.1.3 ASPECTOS NUTRICIONAIS.....	16
	3.2 SUCO DE FRUTAS.....	19
	3.2.1 ALTERAÇÕES CAUSADAS POR ENZIMAS	20
	3.2.2 PROCESSAMENTO DE SUCOS DE FRUTAS	22
	3.2.2.1 TRATAMENTO TÉRMICO	22
	3.2.2.2 TRATAMENTO NÃO TÉRMICO – ULTRASSONICAÇÃO	24
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	26
	4.1 MATÉRIA-PRIMA.....	26
	4.2 CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE GRAVIOLA.....	26
	4.3 TRATAMENTO ULTRASSÔNICO.....	26
	4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	27
	4.5 ATIVIDADE RESIDUAL DA POLIFENOLOXIDASE.....	29
	4.6 CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS.....	29
	4.7 CONTEÚDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO (AA).....	30
	4.8 VARIAÇÃO TOTAL DE COR (TCD).....	30
	4.9 ANÁLISE SENSORIAL	31
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
	5.1 CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE GRAVIOLA.....	32

5.2	Artigo 1: Efeito da sonicação na qualidade do suco de graviola.....	34
5.3	ANÁLISE SENSORIAL	59
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
	REFERÊNCIAS.....	64
	ANEXOS	72
	Anexo 1: Ficha de Análise Sensorial	73
	Anexo 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	74

1. INTRODUÇÃO

A graviola (*Annona muricata* L.) é um fruto tropical que apresenta sabor agradável, cuja polpa pode ser utilizada na preparação de diversos produtos, como sorvetes, néctares e sucos. A fruta é altamente perecível e necessita da utilização de tecnologias capazes de permitirem a sua conservação por um maior período, possibilitando, assim, sua comercialização a mercados distantes. Entretanto, durante o amadurecimento o fruto amolece rapidamente, sendo pouco consumido *in natura* e bastante utilizado na indústria para produção de néctar, sorvetes, doces, geleias e polpa para suco. Além disso, é susceptível ao escurecimento enzimático, reação catalisada por enzimas, que interfere desfavoravelmente nas características sensoriais, tais como sabor, aroma e textura, desses produtos, consistindo em um grande problema para a sua industrialização (UMME *et al.*, 2001). Dentre as enzimas presentes nos alimentos, a polifenoloxidase (PPO) é frequentemente envolvida em mudanças deteriorativas, tornando-se um sério problema, afetando não apenas as propriedades sensoriais e, conseqüentemente, a comercialização do produto, como também seu valor nutricional (OMS-OLIU *et al.*, 2008).

As enzimas são geralmente inativadas por meio de tratamentos térmicos. Entretanto, esses tratamentos demandam alta quantidade de energia e afetam a qualidade do produto como, por exemplo, podem provocar a redução de componentes antioxidantes naturalmente presentes em alimentos, principalmente em frutas e hortaliças (NICOLI *et al.*, 1999; PEREIRA & VICENTE, 2010). Aliado a este fato, Rawson *et al.* (2011b) relatam que a demanda do consumidor por alimentos nutritivos, naturais ou que sejam minimamente processados, levou ao interesse de uso de tecnologias não-térmicas de processamento. A introdução dessas novas tecnologias reduz o tempo de processamento e melhora as condições de operação industrial, resultando em produtos com alta qualidade, e preservação das suas características iniciais (BUTZ & TAUSCHER, 2002; CÁRCEL *et al.*, 2012).

Dentre essas tecnologias, o ultrassom é considerado uma boa alternativa ao processamento térmico. É utilizado em muitas aplicações recentes e, muitas vezes, como tecnologia complementar aos processos térmicos clássicos, sendo particularmente

útil nos processos de esterilização, extração, congelamento e filtração (RAWSON *et al.*, 2011b; CRUZ *et al.*, 2008).

O processamento usando o ultrassom é uma tecnologia não-térmica que tem sido eficaz na inativação de micro-organismos e enzimas relacionadas à degradação de suco de frutas (COSTA *et al.*, 2013; FONTELES *et al.*, 2012; RAWSON *et al.*, 2011a). As ondas de ultrassom resultam da conversão da energia elétrica em energia mecânica por meio de materiais piezoelétricos. Quando a energia do ultrassom se propaga no líquido, bolhas são formadas devido a mudanças na pressão. Essas bolhas colapsam violentamente em ciclos subsequentes de compressão com a propagação das ondas sonoras, resultando em regiões de alta temperatura e pressão. A energia transmitida para o alimento por este tipo de processamento pode ser expressa como intensidade do ultrassom (W/cm^2).

Encontram-se na literatura relatos de efeitos mínimos provocados pelo ultrassom na qualidade de sucos de frutas, como de laranja (VALERO *et al.*, 2007), amora (TIWARI *et al.*, 2009) e morango (TIWARI *et al.*, 2008). Entretanto, trabalhos sobre inativação enzimática e uso do ultrassom em suco de frutas, como o relatado por Fonteles *et al.* (2012) para o suco de melão, são raros. Estudos sobre o uso e o efeito do ultrassom nos parâmetros de qualidade e atividade enzimática em suco de graviola não foram encontrados na literatura.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a aplicação do ultrassom em suco de graviola, a fim de verificar as melhores condições de processamento e avaliar os efeitos de seu uso em parâmetros de qualidade do suco tropical de graviola.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Avaliar a influência do ultrassom na cor, na atividade enzimática (PPO), na concentração de fenólicos totais, na variação de temperatura e no teor de ácido ascórbico do suco tropical de graviola;
- II. Definir uma condição de processamento (intensidade e tempo de aplicação) para tratamento de suco tropical de graviola em ultrassom;
- III. Avaliar sensorialmente o produto final.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 GRAVIOLA

3.1.1 ASPECTOS BOTÂNICOS

A graviola (*Annona muricata* L.) é uma fruta tropical da família *Annonaceae* cujo gênero *Annona* compreende mais de 60 espécies, como a *A. cherimólia* M. (cherimóia), *A. reticulata* L. (condessa) e *A. squamosa* L (pinha) (LIZANA & REGINATO, 1990). Com origem na América Central e norte da América do Sul, é conhecida como *guanábano* (língua espanhola), *soursop* (língua inglesa) e *corossolier* (língua francesa).

Alguns tipos de graviola são conhecidos, sendo que estes se diferenciam pelo formato e sabor do fruto e pela consistência da polpa. No Nordeste, predomina a variedade Crioula, com frutos cordiformes (em forma de coração), pesando entre 1,5 e 3 kg, com polpa mole, doce a subácida. Outros tipos vêm sendo explorados em escala comercial, destacando-se a Morada, a Lisa e a Blanca, tipos introduzidos na Colômbia, mais produtivos, com frutos maiores e mais arredondados (PINTO & SILVA, 1995; ARAÚJO FILHO *et al.*, 1998).

A cor da casca varia de verde escuro a verde claro brilhante, de acordo com o grau de maturação do fruto (BONOMO *et al.*, 2006). A polpa é mole, succulenta, formada por gomos de coloração esbranquiçada, aroma característico e sabor entre fraco e moderadamente ácido. O rendimento da polpa varia conforme os diferentes materiais genéticos. Há registros de valores desde 30 % a 81 % (FILGUEIRAS *et al.*, 2002). As sementes medem entre 1 e 2 cm de comprimento; têm o peso médio de 0,59 g e cor geralmente preta, quando são retiradas do fruto, ficando com coloração marrom-escura a marrom-clara ou castanho após alguns dias fora deste. Raramente são encontradas em número inferior a 100 por fruto (PINTO *et al.*, 2001).

3.1.2 ASPECTOS ECONÔMICOS

O Brasil ocupa o terceiro lugar em produção de frutas e em 2009 foram produzidas mais de 41 milhões de toneladas (IBRAF, 2013), gerando uma receita de cerca de R\$ 17,7 bilhões (IBGE, 2010). A importância socioeconômica do cultivo de anonáceas, especialmente da graviola no Brasil, tem aumentado nos últimos anos pela maior procura por frutas tropicais, além da possibilidade de uso na indústria

farmacêutica e de cosméticos. Este interesse pelo cultivo de anonáceas se deve ao estímulo de preço, bem como à possibilidade de expandir sua demanda para os mercados europeu e americano (BRAGA SOBRINHO, 2010). Nos últimos anos, houve um incremento da exploração econômica de produtos e subprodutos de algumas frutíferas específicas, atribuído à crescente preocupação do consumidor com a relação entre dieta e saúde (YAHIA, 2010).

No Brasil, a gravioleira cresce bem em quase todas as regiões, em especial no Norte, no Nordeste e no Centro-oeste, onde existem condições ideais de clima e solo para seu cultivo, com colheitas de janeiro a março (POLL *et al.*, 2013).

A graviola é também muito apreciada nos mercados latino-americano e europeu, principalmente por suas propriedades alimentícias e nutritivas, aliadas ao seu agradável sabor. Tem-se tornado cada vez mais conhecida, despertando interesse num âmbito maior, devido à valorização de novos sabores tropicais da fruta, em paralelo ao avanço do turismo e da logística, no que diz respeito à conservação e qualidade do seu beneficiamento (POLL *et al.*, 2013).

3.1.3 ASPECTOS NUTRICIONAIS

A demanda pelos frutos da gravioleira é crescente e pode ser atribuída às suas qualidades sensoriais, que possibilitam a sua utilização tanto para consumo *in natura* quanto para o aproveitamento pela agroindústria, visando obtenção de polpa, suco, néctar, entre outros (NOBRE *et al.*, 2003; SACRAMENTO *et al.*, 2003; BATISTA *et al.*, 2004).

As características químicas e físico-químicas e a composição nutricional da graviola são apresentadas nas Tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1: Características químicas e físico-químicas da polpa de graviola.

Características	PINTO e SILVA (1995)	MAIA (2001)	FILGUEIRAS <i>et al</i> (2002)	SACRAMENTO <i>et al</i> (2003)
Sólidos solúveis totais em (°Brix)	-	13,0 – 16,0	13,5 – 19,0	12,18 – 13,85
Acidez em ácido cítrico (g/100g)	0,86 – 0,92	0,70 – 0,80	0,70 – 2,10	0,92 – 1,0
pH	4,20 – 6,30	3,40 – 3,70	3,7 – 4,2	3,44 – 3,47
Açúcares totais (g/100g)	-	7,0 – 13,0	-	12,53 – 14,55
Açúcares redutores (g/100g)	10,20 – 11,72	-	-	-
Cinzas (g/100g)	0,80	-	-	-

Fonte: MAIA *et al.* (2007b); -: não determinado

Tabela 2: Composição nutricional da graviola (*Annona muricata* L.) por 100 g

Nutrientes	Teores	Minerais	Teores	Vitaminas	Teores
Água (g)	81,16	Cálcio (mg)	14	Vitamina C (mg)	20,6
Energia (kcal)	66	Ferro (mg)	0,60	Tiamina (mg)	0,07
Proteína (g)	1,0	Magnésio (mg)	21	Riboflavina (mg)	0,05
Lipídeos totais (g)	0,3	Fósforo (mg)	27	Niacina (mg)	0,90
Cinzas (g)	0,7	Potássio (mg)	278	Ác. Pantotênico (mg)	0,253
Carboidratos (g)	16,84	Sódio (mg)	14	Vitamina B ₆ (mg)	0,059
Fibra dietética total (g)	3,3	Zinco (mg)	0,10	Vitamina A (UI)	2
Açúcar total (g)	13,54	Cobre (mg)	0,086	Vitamina E (mg)	0,08
		Selênio (mcg)	0,6	Vitamina K (mcg)	0,4
				Folato total (mcg)	14

Fonte: USDA (2006)

Tabela 3: Composição nutricional da Graviola (*Annona muricata* L.) por 100g

Nutriente	Teores
Energia (Kcal)	62
Proteína (g)	0,8
Lipídios (g)	0,2
Carboidratos (g)	15,8
Fibras (g)	1,9
Cálcio (mg)	40
Umidade (%)	82,2

Fonte: TACO, 2006

A caracterização física e química dos frutos e a quantificação de componentes bioativos são importantes para o conhecimento do valor nutricional, e do ponto de vista comercial, para agregar valor e qualidade ao produto final. Dentre os compostos com propriedades funcionais em alimentos, substâncias com atividade antioxidante têm recebido grande atenção, pois auxiliam a proteger o organismo humano contra o estresse oxidativo, evitando e prevenindo uma série de distúrbios crônico-degenerativos

(YAHIA, 2010). Esses compostos influenciam na cor, aroma, adstringência (PELEG *et al.*, 1998) e estabilidade oxidativa (NACKZ & SHAHIDI, 2004), sendo as principais fontes as frutas cítricas.

A família *Annonaceae* é muito rica na biodiversidade de compostos químicos como: compostos aromáticos, ácidos fenólicos, taninos, flavonóides, compostos benzênicos, catequinas, proantocianidina, óleos essenciais, esteróides, terpenos, esteróides, alcalóides, acetogeninas, carboidratos, lipídios, proteínas, lactonas, vitaminas, carotenos, saponinas, entre outros (LIMA, 2007; LUNA *et al.*, 2006).

Os compostos fenólicos são um grupo de fitoquímicos muito diversificado, oriundos do metabolismo secundário das plantas e são essenciais para o seu crescimento e reprodução. São sintetizados, principalmente, em condições de estresse como infecções, ferimentos e radiação UV (NACZK & SHAHIDI, 2004; GIADA & MANCINI FILHO, 2006), e definidos quimicamente como compostos que possuem anel aromático com um ou mais grupos hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (GIADA & MANCINI FILHO, 2006). Estão presentes nos vegetais de forma livre ou ligados a açúcares e proteínas e, por terem estrutura variável, são multifuncionais (BRAVO, 1998). Devido a essas diferenciações, são relatados cerca de cinco mil fenóis destacando-se os flavonoides, ácidos fenólicos, fenóis simples, taninos e ligninas.

Os fenólicos, de um modo geral, são inibidores potenciais de carcinogênese, agindo em diferentes estágios do processo patológico de promoção e iniciação de tumores. Alguns deles têm propriedades antioxidantes e podem ser importantes na prevenção de doenças cardiovasculares (BLUM, 1996). Componentes fenólicos também são importantes porque conferem qualidades sensoriais aos frutos (cor e sabor, incluindo adstringência), que pode ser afetada durante o processo tecnológico usado para a produção de sucos e outros produtos derivados (VENDRAMINI e TRUGO, 2004).

Outro composto presente na graviola e de grande importância, visto que também apresenta ação antioxidante é o ácido ascórbico, também conhecido como vitamina C. Esse nutriente é responsável por proteger as células contra os radicais livres causadores de danos. O ácido ascórbico contribui substancialmente para a prevenção do aparecimento de doenças cardiovasculares e câncer. Este tem fórmula química $C_6H_8O_6$, e é uma substância cristalina de sabor ácido e hidrossolúvel, sendo insolúvel na maioria dos solventes orgânicos. Contudo, é termolábil, muito sensível à luz e uma variedade de

reações favorece sua degradação. A exposição ao ar e ao meio alcalino acelera à oxidação, principalmente quando o alimento está em contato com cobre, ferro ou enzimas oxidativas, como as polifenoloxidasas (PPO).

A vitamina C apresenta muitas funções em processos celulares, reações e processos metabólicos como a formação de colágeno, ácidos biliares e síntese da epinefrina. Além disso, atua como cofator enzimático e participa de processos de oxido-redução aumentando a absorção do ferro e a inativação de radicais livres (ARANHA *et al.*, 2000; KLIMCZACK *et al.*, 2007).

3.2 SUCOS DE FRUTAS

O consumo de fruta fresca é crescente em todo o mundo, por uma série de fatores que levam às modificações nos hábitos alimentares, tais como: maior cuidado com a saúde e aspectos nutritivos dos alimentos, com sensibilidade crescente em relação a fatores ecológicos e dietéticos, campanhas publicitárias sobre os benefícios de consumo de frutas e hortaliças, envelhecimento da população, que amplia o conjunto consumidor de maior idade, tendência a desprendimento dos horários e costumes, o que aumenta a substituição das refeições por lanches rápidos, procura por ganho de tempo e por alimentos individualizados de fácil preparo, consumidor aberto e novidades, atraído por produtos novos e uma tendência à busca de novos sabores (RODRIGUES, 2004).

O Instituto Brasileiro de Frutas (IBRAF) estima que em 2012 o consumo *per capita* de frutas chegou a 70,84 kg/habitante/ano, num total de 13,743 milhões de toneladas. Apesar do crescimento, a utilização diária de frutas na alimentação ainda está longe do recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), que é de 100 kg/habitante/ano, ou 400 g/dia (Anuário Brasileiro da Fruticultura, 2013).

A tendência atual de consumo de produtos *in natura* e da manutenção de uma dieta à base de frutas tem contribuído para o aumento do consumo de polpas e sucos de frutas tropicais e seus derivados (ROSENTHAL *et al.*, 2003). O impacto desta demanda nos países em desenvolvimento tem promovido melhoria na capacidade de produção e processamento, assegurando, dessa maneira, a oferta desses produtos no mercado mundial (MAIA *et al.*, 2007a).

Polpa de fruta é o produto não fermentado, não concentrado e não diluído, obtido de frutos polposos, através de processo tecnológico adequado, com um teor mínimo de sólidos totais, proveniente da parte comestível do fruto (BRASIL, 2000).

São produzidos sucos de frutas com teores de polpas de frutas e componentes opcionais diferentes, o que resulta em vários produtos de frutas. De acordo com a legislação brasileira, suco tropical é o produto obtido pela dissolução, em água potável, da polpa de fruta de origem tropical, por meio de processo tecnológico adequado, não fermentado, de cor, aroma e sabor característicos da fruta, submetido a tratamento que assegure sua conservação e apresentação até o momento de consumo (BRASIL, 2003).

O consumo de suco de fruta no Brasil ainda é muito baixo. Segundo a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008 – 2009, a aquisição de suco de fruta envasado é de cerca de 1,48 L/habitante/ano. Já o de refrigerante de cola é de 12,66 L/habitante/ano (IBGE, 2010). Entretanto, o mercado interno de sucos tem apresentado uma tendência ascendente de consumo em razão dos seguintes fatores: o consumidor deseja maior diversificação na oferta de produtos com melhor aroma, sabor, cor e valor nutritivo; o apelo saudável dos sucos de frutas é importante, uma vez que além do seu valor nutritivo, apresenta propriedades funcionais. Uma importante característica do mercado brasileiro de sucos de frutas é sua extraordinária oferta dos mais variados tipos de sucos (MAIA *et al.*, 2007a).

A combinação de crescimento do consumo interno e externo de sucos e polpas e a enorme variedade de frutas tropicais passíveis de exploração e de desenvolvimento no Brasil são abertas ao país como janela de oportunidades no que diz respeito à produção e às exportações de sucos e polpas. Com o aumento da produção de frutas tropicais surge a necessidade de adoção de variedades próprias para a industrialização e a adoção de tecnologias modernas de produção, que poderão alavancar a participação do país nesse agronegócio mundial. Elementos adicionais como políticas públicas que elevem os incentivos à produção e minimizem as barreiras comerciais impostas pelos importadores potenciais, poderão ser também responsáveis pela alavancagem da participação do Brasil no agronegócio mundial de sucos e polpas (MAIA *et al.*, 2007a).

3.2.1. ALTERAÇÕES CAUSADAS POR ENZIMAS

As enzimas são proteínas com atividade catalítica diferente para cada tipo de organismo, tecido ou célula (WHITAKER, 1994). Têm papel importante no contexto biotecnológico porque são responsáveis pela vida celular, além de atuarem nos processos biotecnológicos.

As enzimas podem ser adicionadas aos alimentos, com o objetivo de conferir alterações desejáveis nesses, como, por exemplo, as enzimas pectinolíticas. Estas

degradam substâncias pécticas e são muito utilizadas na indústria de suco de frutas para diminuir a viscosidade e melhorar a eficiência de filtração e clarificação, no tratamento preliminar de uvas na indústria vinícola, na fermentação de chá, de café e de cacau, para melhorar a extração de óleos vegetais e na extração de polpa de tomate (UENOJO & PASTORE, 2007). Entretanto, também podem causar deterioração dos alimentos, como no caso das polifenoloxidasas (PPO), enzimas presentes naturalmente em alguns alimentos, que utilizam compostos fenólicos como substratos e apresenta intensidade variável durante o crescimento, desenvolvimento e maturação dos frutos (SILVA, 2000) contribuindo para o escurecimento enzimático.

A PPO faz parte de um grupo de enzimas conhecidas como oxidorredutases que oxidam fenóis e o-quinonas na presença de oxigênio. É classificada pela IUBMB (*International Union of Biochemistry and Molecular Biology*) como EC 1.14.18.1, mas também pode ser denominada de tirosinase, polifenolase, fenolase, catecol oxidase, creolase ou catecolase, dependendo dos vários substratos que podem ser utilizados nas reações sendo uma das responsáveis pelo escurecimento de vegetais, leguminosas e cereais (GOMES *et al.*, 2001; OMS-OLIU *et al.*, 2008).

As PPO participam de dois tipos de reações sequenciais (Figura 1). Na primeira, as enzimas, denominadas monofenol mono-oxigenases (E.C. 1.14.18.1), hidroxilam um monofenol para formar um o-difenol (atividade cresolase) incolor. A reação seguinte, descrita como atividade catecolase (E.C. 1.10.3.2), é a oxidação do o-difenol em compostos de cor ligeiramente amarela, as o-quinonas. As quinonas, por sua vez, sofrem reações secundárias, enzimáticas ou não, formando os pigmentos marrons característicos do fenômeno (MURATA *et al.* 1995; SILVA *et al.*, 2000). Esta reação influencia negativamente na qualidade e aceitabilidade comercial de produtos como sucos, frutas minimamente processadas, geleias, entre outros, devido à perda de vitaminas e deterioração de aroma e sabor (WHITAKER, 1994; LIMA *et al.*, 2003).

Esta enzima está relativamente presente em todos os estágios de desenvolvimento da planta, contudo parece ter maior atividade em frutos mais jovens, e após injúria mecânica ou ataque microbiano (YORUK & MARSHALL, 2003).

O escurecimento enzimático inicia-se como resposta às injúrias fisiológicas ou mecânicas. As lesões provocadas durante o processamento ou manuseio levam à ruptura da célula, promovendo o contato de compostos fenólicos com as enzimas envolvidas nas reações de escurecimento (PORTE & MAIA, 2001; VILAS BOAS, 2002).

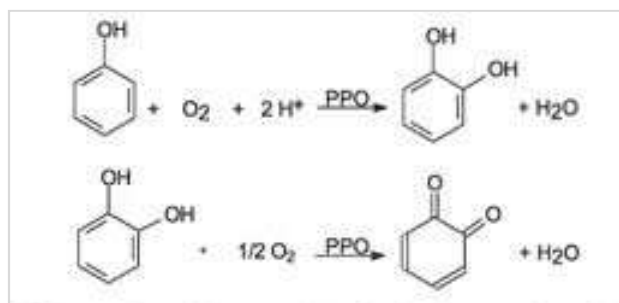


Figura 1: Reação de oxidação catalítica do fenol e catecol produzindo o-quinona
Fonte: ZERAIK *et al.*, 2008.

Estima-se que mais de 50% das perdas de frutas é causada pelo escurecimento enzimático e que além das frutas, outros vegetais como a batata e yacon, também são susceptíveis ao escurecimento enzimático, provocando um impacto econômico significativo para os produtores de alimentos (VILAS BOAS *et al.*, 2009). Portanto, o controle do escurecimento enzimático torna-se um ponto chave para a diminuição das perdas comerciais para o agricultor, bem como para a indústria.

3.2.2. PROCESSAMENTO DE SUCOS DE FRUTAS

Existem vários métodos de obtenção de polpa e sucos de frutas, principalmente com base nos princípios de conservação. De uma forma geral, as etapas do processo produtivo são praticamente as mesmas até a etapa de lavagem e seleção final, diferenciando-se a partir da extração do suco ou da polpa, formulação, do enchimento ou tratamento térmico (MAIA *et al.*, 2007a).

3.2.2.1 TRATAMENTO TÉRMICO

Para que os alimentos processados conservem-se por mais tempo, é necessário não somente que os microrganismos sejam destruídos, mas também que a atividade enzimática seja inibida ou bloqueada (MAIA *et al.*, 2007b).

O tratamento térmico consiste em meio eficiente para a inativação das enzimas. No entanto, é preciso um controle efetivo do tempo de aquecimento a altas temperaturas para que enzimas sejam inativadas sem provocar mudanças significativas nas características sensoriais do produto (MAIA *et al.*, 2007b), como a redução de componentes antioxidantes presentes em alimentos (NICOLI *et al.*, 1999). Além disso, esses tratamentos demandam alta quantidade de energia (PEREIRA & VICENTE, 2010).

A conservação de sucos é determinada primeiramente pela prevenção do desenvolvimento de micro-organismos deteriorantes através de legislação específica como a RDC nº12 (BRASIL, 2001) e pela inibição da ação de enzimas naturais, o que é obtido pelo uso de conservantes químicos e/ou por tratamentos térmicos a que o produto é submetido (LIMA *et al.*, 2012).

A pasteurização é um processo de preservação utilizado para diminuir a carga microbiana, estendendo, assim, a vida de prateleira do produto. Neste processo são utilizadas temperaturas moderadas, se comparado com o processo de esterilização. O fato de não eliminar todos os microrganismos na forma vegetativa e quase nenhuma forma de esporo, faz com que o suco pasteurizado necessite de tratamentos complementares de conservação, tais como a refrigeração, uso de aditivos e atmosfera modificada (FRANCIS, 1999). A pasteurização do suco de fruta pode aumentar sua vida de prateleira. Fatores como as condições de pH, micro-organismo ou enzima alvo, natureza e sensibilidade do produto e forma de aquecimento vão influenciar no rigor do tratamento térmico, ou seja, no emprego do binômio tempo x temperatura, e na vida de prateleira do produto (FRANCIS, 1999).

Uma vez controlada a carga microbiana, a estabilidade do suco está relacionada à ocorrência de reações químicas que comprometem a qualidade sensorial (aroma, sabor, cor, consistência, etc.) e perdas nutricionais (LIMA *et al.*, 2012).

Hayashi (1996) relatou que o processamento térmico de suco de melão resultou em formação de sabor/aroma desagradáveis, além de degradação da cor, vitaminas e compostos aromáticos do produto. Maia *et al.* (2007b) relataram em seu trabalho com suco de acerola uma redução no conteúdo de ácido ascórbico e mudança de coloração passando de vermelho brilhante para amarelo, após a pasteurização do suco.

Marchese (1995) em seu trabalho com suco de laranja reportou o impacto do tempo de pasteurização na descoloração do suco e sugeriu processos com temperatura menor que 80°C a fim de minimizar a degradação de antocianinas.

Perdas de 25 e 30% de antocianinas foram encontrados por Mikkelsen & Pool (2002), que estudaram a decomposição e a transformação de antocianinas durante o processamento de suco de “black currant” (groselha preta), relataram que a maior perda se dava durante o tratamento térmico.

3.2.2.2 TRATAMENTO NÃO-TÉRMICO – ULTRASSONICAÇÃO

A manutenção do valor nutritivo e das características sensoriais de alimentos que sejam minimamente processados levou ao interesse do uso de tecnologias não-térmicas de processamento em sucos de frutas (RAWSON *et al.*, 2011a). A introdução dessas novas tecnologias pode reduzir o tempo de processamento e melhorar as condições de operação industrial, resultando em produtos com alta qualidade, que preservem suas características iniciais (BUTZ & TAUSCHER, 2002; CÁRCEL *et al.*, 2012, COSTA *et al.*, 2013).

Dentre essas tecnologias, o ultrassom tem sido utilizado em muitas aplicações recentes e, muitas vezes, como tecnologia complementar aos processos térmicos clássicos (CRUZ *et al.*, 2008), sendo particularmente útil nos processos de esterilização e congelamento, além dos processos de extração e filtração, reduzindo tempos de processamento e aumentando a eficiência (RAWSON *et al.*, 2011b).

O ultrassom caracteriza-se por produzir ciclos repetidos de compressão e descompressão, chamados de cavitação acústica, que é o processo de nucleação, crescimento e colapso de bolhas em líquidos expostos a ondas ultrassônicas em baixa frequência (20-100 kHz) e alta potência (10-1000 W/cm²). O colapso das bolhas gera altas temperaturas locais (5000 K) e altas pressões (1000 atm), resultando em altas taxas de cisalhamento e em fortes micro-correntes que podem contribuir para inativação enzimática e microbiana (APFEL, 1981; MASON, 1991). Dessa forma, o ultrassom é uma tecnologia não térmica efetiva na inativação de microrganismos e enzimas relacionadas à degradação de sucos de fruta (RAWSON *et al.*, 2011a). Entretanto, a inativação enzimática depende, dentre outras, da natureza da enzima, das variáveis de processo (intensidade da potência do ultrassom, frequência) e características da matriz alimentar (viscosidade, composição química do alimento) (FONTELES, *et al.*, 2012; COSTA *et al.*, 2013).

Estudos relatam o efeito do tratamento com ultrassom em sucos de frutas. Fonteles *et al.* (2012) estudaram o efeito do processamento de ultrassom em suco de melão. Nesse estudo, ultrassom observou-se que o uso do numa intensidade de 376 W/cm² durante 10 minutos resultou numa diminuição significativa da atividade da PPO. Também foi observado que o processamento foi capaz de melhorar e manter a homogeneidade do suco por um período de 6 semanas de armazenamento a 4°C.

Apesar dos estudos de Gómez-López *et al.* (2010) e Wong *et al.* (2010) relatarem alterações nas qualidades do suco de laranja, O'Donnell *et al.* (2010) e Tiwari

et al. (2009) relataram que suco de frutas tratadas com ultrassom sofreram mínimos efeitos sobre a qualidade final do produto, validando as aplicações dessa tecnologia no processamento de alimentos.

Jang & Moon (2011) observaram que o ultrassom associado ao ácido ascórbico apresentou efeito inibitório e sinérgico em enzimas relacionadas ao escurecimento enzimático de maçãs minimamente processadas. Rawson *et al.* (2011a) perceberam que o ultrassom influencia significativamente na retenção de ácido ascórbico, licopeno e compostos fenólicos do suco de melancia, a depender de variáveis como intensidade de potência e tempo de exposição. Tiwari *et al.* (2009), em seus estudos com suco de amora, relataram retenção maior que 94% de antocianinas em condições máximas de tratamento com ultrassom (100% de potência durante 10 minutos), com alterações sutis na coloração, considerando a sonicação uma boa técnica na conservação e processamento de suco de amora.

Diante do exposto, o uso do ultrassom parece ser uma tecnologia adequada para processamento de suco de frutas, de forma a manter ou provocar efeitos mínimos em suas qualidades nutricionais e sensoriais.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Experimentação em Análise de Alimentos (LEAAL) do Departamento de Nutrição – CCS/UFPE e no Laboratório de Processos Químicos (LPQ) do Departamento de Engenharia Química – CTG/UFPE.

4.1 MATÉRIA PRIMA

O suco tropical de graviola (*A. muricata* L.) foi preparado a partir de polpa produzida por indústria local, sendo esta polpa livre de água, conservantes. A Figura 2 apresenta o fluxograma da obtenção da polpa de graviola na indústria. A polpa foi diluída com água potável (1:1) e o suco foi armazenado a 4 ° C antes do tratamento.

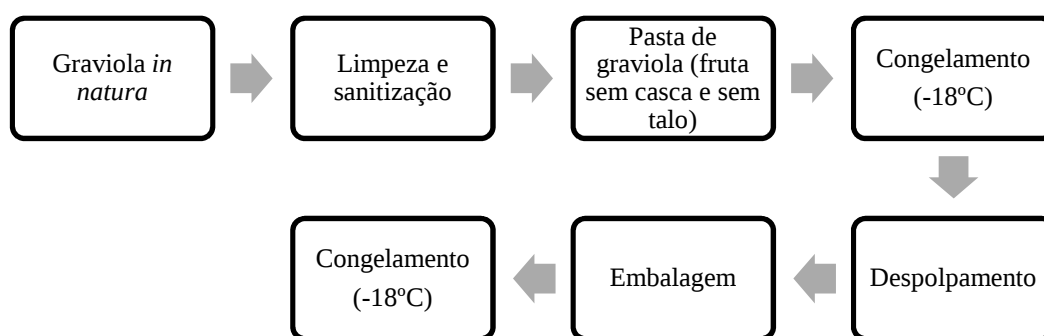


Figura 2. Fluxograma da obtenção da polpa de graviola.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DA POLPA

Foram realizadas as seguintes análises físico-químicas na polpa: sólidos solúveis, pH, acidez total (expressa em ácido cítrico), ácido ascórbico, açúcares totais, sólidos totais (AOAC, 1990) e coliformes a 45° e *Salmonella* sp. (BRASIL, 2001).

4.3 TRATAMENTO ULTRASSÔNICO

Para a sonicação do suco foi utilizado um processador ultrassônico de 500W (Unique, modelo DES500, Brasil), com uma sonda (macropona) de 1,3 cm de diâmetro. As amostras foram processadas em uma frequência ultrassônica constante de 19 kHz. Alíquotas de 150 mL de suco tropical de graviola foram colocadas em béqueres de vidro de 250 mL. A sonda foi submersa a uma profundidade de 25 mm na amostra. A

intensidade da energia ultrassônica dissipada a partir da ponta da sonda foi calculada pela equação 1 (LI *et al.*, 2004).

$$I = \frac{P}{\pi r^2} \quad (1)$$

Onde:

r = raio da ponteira de titânio (cm);

P = nível de potência aplicada (W);

A potência de entrada foi controlada por meio de ajuste da amplitude e os níveis de potência foram ajustados para 20%, 30%, 60%, 90% e 100% da energia total de entrada (500 W). As intensidades calculadas foram de 75, 118, 224, 330 e 373 W/cm², respectivamente.

Devido ao calor gerado pela energia do ultrassom, tempos de processamento curtos (de 2 a 10 min.) foram aplicados de acordo com Tiwari *et al.* (2009) e a temperatura inicial e final foram registradas para todas as amostras. A temperatura da amostra foi determinada utilizando um termômetro digital. O procedimento consistiu em mergulhar o termômetro no suco imediatamente antes e após sonicação. Todas as análises foram feitas em triplicata.

4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Para estudar os efeitos da intensidade da potência e tempo de aplicação do ultrassom no suco de graviola, foi utilizado um delineamento experimental fatorial completo 2², mais os pontos centrais (nível 0) e pontos axiais (níveis $\pm \alpha = 1,41$). Dessa forma, cada fator foi estudado em 5 níveis, conforme apresenta a Tabela 4. As faixas de variação entre o limite inferior e superior de cada variável foram estabelecidas com base na literatura (FONTELES *et al.*, 2012).

Tabela 4- Variáveis independentes para o tratamento com ultrassom

Variável	-1,41	-1	0	+1	+1,41
Intensidade da potência (W/cm ²)	75	118	224	330	373
Tempo (min)	2	3	6	9	10

O planejamento resultou em 11 ensaios (Tabela 5), sendo quatro fatoriais (combinações entre os níveis ± 1), três centrais (com repetições no nível 0) e quatro axiais (uma variável no nível $\pm \alpha$ e a outra no ponto central), gerando um modelo quadrático, onde o valor das variáveis dependentes Y (atividade enzimática residual, cor,

teor de fenólicos totais, teor de ácido ascórbico, diferença de temperatura e diferença de cor) são função das variáveis independentes (intensidade de potência e tempo), conforme descreve a equação abaixo:

$$Y = \varphi(I, t) = \beta_o + \beta_1 I + \beta_2 t + \beta_{11} I^2 + \beta_{22} t^2 + \beta_{12} It \quad (2)$$

Tabela 5- Planejamento experimental codificado e decodificado do tratamento com ultrassom

Ensaio	Intensidade da potência	Tempo	Intensidade da potência (W/cm ²)	Tempo (min)
01	-1	-1	118	3
02	+1	-1	330	3
03	-1	+1	118	9
04	+1	+1	330	9
05	0	0	224	6
06	0	0	224	6
07	0	0	224	6
08	-1,41	0	75	6
09	+1,41	0	373	6
10	0	-1,41	224	2
11	0	+1,41	224	10

Os pontos centrais estimam o erro experimental e determinam a precisão da equação polinomial. Os pontos axiais ($\pm \alpha$) são utilizados para a ampliação do modelo linear, tornando-o um modelo quadrático. O valor de α é estabelecido em função do número de variáveis independentes (k), sendo definido pela equação (3) (BARROS NETO *et al.*, 2001). O valor de α calculado para o presente estudo ($k = 2$) é 1,41.

$$\alpha = (2^k)^{1/4} \quad (3)$$

A elaboração dos modelos foi realizada utilizando o software STATISTICA 7.0, sendo considerado preditivo o modelo que apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança e alto valor de R^2 .

4.5 ATIVIDADE RESIDUAL DA POLIFENOLOXIDASE

A extração e atividade da enzima (PPO) foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Wissermann & Lee (1980). Para a extração, 20 mL de suco de graviola foi misturado com o mesmo volume (20 mL) de tampão fosfato de potássio (0,05 mol/L pH 7,0) contendo KCl 0,1 mol/L e 1 % (v/v) de polivinilpirrolidona (PVP). A mistura foi centrifugada por 10 min duas vezes, em uma centrífuga (Eppendorf, modelo 5403, Alemanha) a 11000 rpm e 4°C. O sobrenadante foi usado como extrato enzimático. A mistura de reação continha 0,3 mL do extrato enzimático e 1,85 mL de uma solução tampão de fosfato de potássio (0,1 mol/L, pH 6,0) contendo catecol (0,1 mol/L) e KCl (0,1 mol/L). A mistura da reação foi incubada a 30 ° C durante 30 minutos e interrompida com a adição de 0,8 mL de ácido perclórico a 2 mol/L. Após a sedimentação foi realizada leitura em espectrofotômetro (Varian, modelo Cary 50 Bio UV Visível, Austrália) a 395 nm. Uma unidade de atividade enzimática (1 UAE) foi definida como a quantidade de enzima que provoca uma alteração de 0,001 na absorbância por minuto. Todas as medições foram realizadas em triplicata.

A atividade enzimática residual após a aplicação do ultrassom foi calculada por:

$$RA (\%) = \frac{A_s}{A_o} \cdot 100 \quad (4)$$

Onde:

A_s = Atividade da amostra após aplicação do ultrassom;

A_o = Atividade inicial da amostra.

4.6 CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado utilizando o reagente Folin-Ciocalteu de acordo com o método de Singleton *et al.* (1999). A extração fenólica foi realizada a partir da mistura de 15 mL do suco e 25 mL de metanol. A mistura foi agitada e centrifugada por 15 minutos a 11000 rpm. O sobrenadante foi considerado extrato fenólico. A mistura de reação contendo 0,5 mL de extrato fenólico, 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu a 10% (Sigma-Aldrich, Alemanha) e 2 mL de reagente de carbonato de sódio a 4% foi mantida ao abrigo da luz durante 2 horas à temperatura ambiente e depois foi realizada leitura em espectrofotômetro a 760 nm.

Utilizou-se ácido gálico (5-100 ug/mL) como um padrão para construção da curva analítica. Os resultados foram expressos como µg de equivalentes ao ácido gálico por 100 mL de amostra. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

4.7 CONTEÚDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO (AA)

O teor de ácido ascórbico foi determinado de acordo com Strohecker & Henning (1967). Amostras de 15 mL de cada ensaio foram diluídas em 100 mL de ácido oxálico a 0,5% a 4 ° C em balão volumétrico e, em seguida, filtrada com papel de filtro. Uma alíquota de 5 mL do filtrado foi titulado com indicador 2,6-diclorofenol-indofenol (DFI) até o ponto de equivalência. O teor de ácido ascórbico foi expresso como mg de ácido ascórbico por 100 mL da amostra de suco. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

4.8 VARIAÇÃO TOTAL DE COR (TCD)

A análise de cor do suco tropical de graviola foi determinada utilizando um colorímetro (Minolta, CR400, Japão). Os instrumentos de reflectância determinam três parâmetros de cor: L * (luminosidade ou brilho), a * (vermelho / verde) e b * (amarelo / azul). Os valores numéricos de L *, a * e b * foram convertidos em TCD (diferença de cor total), o que indica a magnitude da mudança de cor após o tratamento, usando a equação 5. O valor de referência para o TCD foi o suco não tratado. As medições de cor foram realizadas em quintuplicata.

$$TCD = \sqrt{(L^* - L_o^*)^2 + (a^* - a_o^*)^2 + (b^* - b_o^*)^2} \quad (5)$$

Onde:

TCD é a diferença total de cor;

L_o^* e L^* são as luminosidades das amostras antes e após aplicação do ultrassom, respectivamente;

a_o^* e a^* são as intensidade das cores vermelha (valor positivo) e verde (valor negativo) das amostras antes e após aplicação do ultrassom, respectivamente;

b_o^* e b^* são as intensidade das cores amarela (valor positivo) e azul (valor negativo) das amostras antes e após aplicação do ultrassom, respectivamente.

4.9 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial foi realizada no Laboratório de Técnica Dietética do LEAAL – Departamento de Nutrição / UFPE.

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, Certificado de Registro para Apreciação Ética de acordo com o registro nº 11240912.9.0000.5208, sendo realizado conforme os preceitos da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1996).

A análise sensorial foi realizada com base em teste de comparação e a intenção de compra com 61 provadores não treinados (de ambos os sexos e diferentes faixas etárias, sendo professores, funcionários e alunos da instituição).

As amostras de suco tropical de graviola com e sem tratamento ultrassônico adoçados com açúcar (2%), foram servidas simultaneamente após serem retiradas do armazenamento refrigerado, sendo que cada participante recebeu aproximadamente 30 mL de cada suco, servidas em copos descartáveis brancos, em cabines individuais, sob iluminação ambiente e codificados com números de 3 dígitos aleatórios de forma a não influenciar os provadores. A ordem da apresentação das amostras foi balanceada para que cada amostra aparecesse em cada posição em igual número de vezes.

Os provadores foram convidados a beber água em temperatura ambiente entre as amostras para evitar um retrogosto. Os atributos aparência, aroma, sabor e textura, foram mensuradas em escala hedônica estruturada de nove pontos, variando de um (desgostei extremamente) a nove (gostei extremamente). A intenção de compra foi avaliada com uma escala hedônica de cinco pontos variando de um (certamente não compraria) a cinco (certamente compraria). A ficha utilizada na análise sensorial encontra-se no Anexo I e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) no Anexo II.

Os resultados obtidos no teste de aceitação foram avaliados utilizando Análise de Variância (ANOVA).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE GRAVIOLA

Os resultados da caracterização da polpa utilizada neste estudo estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Resultados das análises físico-químicas da polpa de graviola

Análise	Resultado	Valores de referência*	
		Mínimo	Máximo
Sólidos Solúveis (°Brix)	14±0,00	9,00	–
pH	3,52±1,01	3,50	–
Sólidos totais (g/100g)	23,58±1,18	12,00	–
Açúcares totais (g/100g)	4,12±0,23	6,50	17,00
Acidez em ácido cítrico (g/100g)	0,474±0,01	0,60	–
Vitamina C (mg/100g)	8,92±1,78	10,00	–

**Instrução Normativa nº01 de MAPA (BRASIL, 2000) – não determinado

As análises realizadas para caracterização da polpa são responsáveis pelas mudanças químicas relacionadas com o *flavor* que caracterizam o amadurecimento do fruto (SALGADO *et al.*, 1999).

Os valores encontrados para de sólidos solúveis (°Brix), pH e sólidos totais encontram-se em conformidade com a legislação vigente e são semelhantes aos valores encontrados em outros estudos (SALGADO *et al.*, 1999; CALDAS *et al.*, 2010; CANUTO *et al.*, 2010).

O valor do pH inferior a 4,5 possibilita classificar a polpa como ácida, o que desfavorece o desenvolvimento de bactérias, com exceção das ácido tolerantes. Na análise de acidez em ácido cítrico, o valor encontrado encontra-se abaixo do preconizado pela legislação. A maioria dos frutos apresenta uma diminuição na acidez à medida que amadurece, contudo, alguns frutos, como a graviola, apresentam comportamento diferente, ou seja, um aumento e/ou manutenção no nível de acidez. Assim, esse valor está ligado diretamente ao grau de maturação da fruta (SALGADO *et al.*, 1999).

Na avaliação do teor de açúcar total foi encontrado o valor de 4,12 g/100 g, enquanto o PIQ (Padrão de Identidade e Qualidade) determina valor mínimo de 6,5 g/100 g. Vale salientar que Salgado *et al.*, (1999) em seus estudos com polpa congelada

de graviola encontraram valor médio de 9,5g/100g. No entanto, Leal (2013) encontraram valores de 4,72 g/100 g e Sacramento *et al.* (2003) encontraram valores de 13,31 g/100 g para polpas de graviola *in natura*. Assim pressupõe-se que essas diferenças ocorrem em razão da época de colheita, maturação, armazenamento do fruto antes do processamento e acondicionamento das polpas.

Os resultados da análise microbiológica (coliformes 45° e *Salmonella* sp.) encontram-se em conformidade com a legislação para polpa de fruta (BRASIL, 2001).

5.2 ARTIGO

O artigo **“Efeito da sonicação na qualidade do suco de graviola”** foi submetido a Revista Food Chemistry, classificada como A1 no Qualis - Nutrição.

Efeito da sonicação na qualidade do suco de graviola

Daniely da Rocha Cordeiro Dias^a, Zilmar Meireles Pimenta Barros^b, Carlos Brian Oliveira de Carvalho^b, Fernanda Araújo Honorato^b, Nonete Barbosa Guerra^a, Patrícia Moreira Azoubel^{b,*}

^aUniversidade Federal de Pernambuco, Departamento de Nutrição, Av. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, Recife, PE, 50670-901, Brazil.

^bUniversidade Federal de Pernambuco, Departamento de Engenharia Química, Av. Prof. Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária, Recife-PE, 50740-521, Brazil.

RESUMO

Os efeitos do processo de ultrassom sobre os parâmetros de qualidade e na atividade residual de polifenoloxidase (PPO) de suco de graviola foram investigados. Um delineamento composto central foi realizado alterando o tempo de processamento e intensidade de ultrassom. Atividade residual da PPO, aumento da temperatura, cor, conteúdo de ácido ascórbico e compostos fenólicos foram as respostas avaliadas. Após o processamento, a atividade de PPO no suco foi reduzida em quase 30% e alterações de cor observadas durante a sonicação foram sutis. O efeito nos compostos fenólicos em comparação com o suco não sonicado não foi estatisticamente significativo. No entanto, uma boa capacidade de retenção destes compostos foi obtida (91,4%) na maior intensidade (373 W/cm²). O teor de ácido ascórbico aumentou na maior parte das amostras tratadas. Quanto maior a intensidade ultrassom e o tempo de processamento de suco, maior sua temperatura final. A tecnologia demonstrou ser adequada para o suco graviola como alternativa aos tratamentos térmicos e outros, que resultam na perda de qualidade.

Palavras-chave: *Compostos bioativos, polifenoloxidase, qualidade, graviola, ultrassom.*

* Corresponding author: Tel.: +55-81-2126-8583; fax: +55-81- 2126-7298.

E-mail address: pazoubel@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A graviola (*Annona muricata* L.) da família *Annonaceae* está entre as frutas tropicais importantes que contribuem para o crescimento econômico de alguns países tropicais, ou seja, da América tropical, Austrália, África e Malásia (Shashirekha *et al.*, 2008). Ela é valorizada pelo seu sabor muito agradável, sub-ácido, aromático e polpa suculenta, excelente para fazer bebidas e sorvetes e, apesar de levemente azeda, pode ser consumida *in natura*. A polpa de graviola é amplamente utilizada para a fabricação de vários produtos como sucos, néctares, xaropes, shakes, doces, geléias, compotas e sorvetes. É também matéria-prima para pós, barras de frutas e flocos (Telis-Romero *et al.*, 2007).

Ao longo dos últimos anos, observou-se um aumento na demanda de alimentos, quer em termos de quantidade ou qualidade, impondo modificações nas técnicas de processamento (Pingret *et al.*, 2013). O tratamento térmico é o mais comum, sendo as técnicas de pasteurização e esterilização amplamente utilizadas como para a inativação de microrganismos e enzimas na indústria de alimentos (Adekunte *et al.*, 2010). A crescente demanda dos consumidores por alimentos à base de produtos naturais que promovam a saúde, tais como os de sucos de frutas frescas que sejam microbiologicamente seguros, com melhor qualidade e vida de prateleira extensível. Até o momento, várias tecnologias inovadoras, tais como irradiação, tratamentos hidrotérmicos, desidratação osmótica, as aplicações de campo elétrico pulsado, entre outras, têm sido exploradas para melhorar a vida de prateleira e para a preservação das qualidades nutricionais e sensoriais de frutas frescas ou seus produtos. Entre estas tecnologias, existe a sonicação (ultrassom), que é uma tecnologia emergente e é considerada como sendo de baixo custo, simples, viável, amiga do ambiente e altamente eficaz para a realização de descontaminação microbiana (Tiwari *et al.*, 2009).

O ultrassom é um campo de rápido crescimento da pesquisa, que está encontrando crescente utilização na indústria de alimentos (Zheng & Sun, 2006). Ondas de ultrassom resultam da conversão de energia eléctrica em energia mecânica por meio de materiais piezoelétricos. Quando a energia ultrassônica propaga-se no líquido, são formadas bolhas de cavitação devido às alterações de pressão. Estas bolhas colapsam violentamente em ciclos subsequentes de compressão com a propagação da onda sonora, o que resulta em regiões de alta temperatura e pressão. A energia transmitida

para o processamento de alimentos através de ultrassom pode ser expressa como ultrassom de potência (W), intensidade de ultrassom (W/cm^2), densidade de energia acústica (W/mL), ou intensidade da cavitação (O'Donnell *et al.*, 2010).

O tratamento de ultrassom é uma tecnologia não-térmica que tem sido eficaz na inativação de microrganismos e enzimas relacionadas com a degradação dos sucos de frutas, permitindo o tratamento de alimentos termo-sensíveis (Costa *et al.*, 2013; Fonteles *et al.*, 2012; Rawson *et al.*, 2011a). Estas inativações foram relatadas como dependente da natureza da enzima, das variáveis de processo (intensidade de ultrassom, de frequência ultrassom, temperatura ou pressão); as características do meio (viscosidade, composição da matriz do alimento), bem como do tipo de conexão e reações químicas que estas estabelecem com outras moléculas (O'Donnell *et al.*, 2010).

Entre as enzimas alimentares, a polifenoloxidase (PPO) é frequentemente envolvida em várias alterações deteriorantes, tais como escurecimento enzimático, com a consequente perda de propriedades sensoriais e nutricionais das frutas e legumes (Oms-Oliu *et al.*, 2008). Esta enzima é geralmente inativada por tratamentos térmicos, que demandam grande quantidade de energia além de transmitir várias perdas de qualidade (Pereira & Vicente, 2010).

Muitos estudos têm sido realizados sobre diferentes sucos de frutas tratadas com ultrassom, principalmente suco de limão Kasturi (Bhat *et al.*, 2011), suco de laranja (Tiwari *et al.*, 2008), suco de morango (Tiwari *et al.*, 2009), suco de melão (Fonteles *et al.*, 2012), suco de abacaxi (Costa *et al.*, 2013) e suco de goiaba em combinação com carbonatação (Cheng *et al.*, 2007). Poucos estudos relatam a inativação de enzima e os efeitos do ultrassom na qualidade do suco de graviola. Portanto, o objetivo deste trabalho foi investigar o impacto das condições de processamento de ultrassom (tempo e intensidade) nas características físico-químicas do suco de graviola. O efeito da sonicação na atividade da polifenoloxidase, compostos fenólicos, o conteúdo de ácido ascórbico, os valores das cores e do aumento da temperatura em função da intensidade e tempo de processamento de ultrassom foram avaliados pela Metodologia da Superfície de Resposta.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 PREPARAÇÃO DO SUCO

O suco de graviola (*A. muricata* L.) foi preparado a partir de polpas de frutas congeladas obtidas em indústria local, sem adição de conservantes e não pasteurizadas. A polpa foi diluída com água destilada (1:1) e o suco foi armazenado a 4 ° C antes do processamento.

2.2 TRATAMENTO ULTRASSÔNICO

Um processador de ultrassom de 500 W (Unique ® DES500, Brasil), com ponta da sonda 1,3 cm de diâmetro foi usado para a sonicação suco. As amostras foram processadas em uma frequência de ultrassom constante de 19 kHz. Amostras de suco de graviola (150 mL) foram colocadas em um béquer de vidro de 250 mL. A sonda de ultrassom foi submersa a uma profundidade de 25 mm na amostra. A intensidade de potência do ultrassom, que se dissipou a partir da ponta da sonda foi calculada pela equação (1) (LI *et al.*, 2004).

$$i = \frac{P}{\pi r^2} \quad (1)$$

Onde: r é o raio da ponta de titânio (cm) e P é o nível de energia de entrada (W). A potência de entrada foi controlada por meio de ajuste da amplitude e os níveis de potência foram ajustados para 20%, 30%, 60%, 90% e 100% da energia total de entrada (500 W). As intensidades calculadas foram de 75, 118, 224, 330 e 373 W/cm², respectivamente.

Devido ao calor gerado pelo ultrassom de potência, foram aplicados tempos de processamento curtos (de 2 a 10 min) (Tiwari *et al.*, 2009) e a temperatura inicial e final foi registrada para todas as amostras. A temperatura da amostra foi determinada utilizando um termômetro digital. O procedimento consistiu em mergulhar o termômetro no suco imediatamente após a sonicação.

2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Um delineamento experimental composto central (Khuri & Cornell, 1996) foi usado para experimentos de sonicação de suco de graviola usando dois fatores: intensidade de potência e tempo de processamento. Cinco níveis de cada variável foram

estudadas, incluindo o ponto central e dois pontos axiais e onze combinações foram realizadas com três repetições do ponto central (Tabela 1).

Supunha-se que uma função matemática, ϕ , existe para a variável resposta Y (atividade residual de polifenoloxidase, compostos fenólicos totais, teor de ácido ascórbico, diferença de cor e aumento de temperatura), em função das variáveis independentes do processo (Khuri & Cornell, 1996). A intensidade do ultrassom (i) e o tempo de processamento (t):

$$Y = \phi(I, t) = \beta_o + \beta_1 i + \beta_2 t + \beta_{11} i^2 + \beta_{22} t^2 + \beta_{12} it \quad (2)$$

Para obtenção dos coeficientes de regressão, análise de variância, e geração de gráficos tridimensionais, o programa Statistica 7.0 foi utilizado.

2.3 ATIVIDADE RESIDUAL DA POLIFENOLOXIDASE

Para determinação da polifenoloxidase (PPO, 1.14.18.1 CE) foram feitas a extração e atividade da enzima de acordo com a metodologia descrita por Wissemann e Lee (1980). Para a extração, 20 mL de suco de graviola foi misturada com o mesmo volume de tampão de fosfato de potássio (0,05 mol/L pH 7,0) contendo 1 % (v/v) de polivinilpirrolidona (PVP). A mistura foi centrifugada duas vezes (10 min de cada vez) numa centrífuga (Eppendorf 5403, Alemanha) a 11000 rpm, a 4 ° C. O sobrenadante foi usado como a fonte de enzima. A mistura de reação continha 0,3 mL de extrato de enzima e 1,85 mL de uma solução tampão de fosfato de potássio (0,1 mol/L, pH 6,0) contendo catecol (0,1 mol/L) e KCl (0,1 mol/L) . A mistura da reação foi incubada a 30 ° C durante 30 min. A reação foi interrompida com a adição de 0,8 mL de ácido perclórico a 2 mol/L. Uma unidade de atividade enzimática (1 UAE) foi definida como a quantidade de enzima que provoca uma alteração de 0,001 na absorbância (395 nm) por minuto. Todas as medições foram realizadas em triplicata.

A atividade residual enzimática (RA) da PPO após a sonicação foi calculada de acordo com a equação (3).

$$RA (\%) = \frac{A_s}{A_o} \cdot 100 \quad (3)$$

Os subíndices o e s na equação 3 significam amostra controle (não tratada) e sonicada, respectivamente.

2.4 CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

O conteúdo de fenólicos totais foi determinado utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, de acordo com o método de Singleton *et al.* (1999). A mistura de reação continha: 0,5 mL de extrato fenólico, 2,5 mL de Folin-Ciocalteu a 10 % (Sigma-Aldrich, Alemanha) e 2 mL de carbonato de sódio a 4%. A mistura foi depois deixada no escuro durante 2 h à temperatura ambiente. Depois disso, as amostras foram centrifugadas a 11000 rpm durante 10 min. A absorbância da amostra foi medida a 760 nm, utilizando solução de ácido gálico (5-100 ug / mL) como padrão. Os resultados foram expressos como mg de equivalentes de ácido gálico por 100 mL de amostra. Todas as medições foram realizadas em triplicata.

2.5 CONTEÚDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO

O teor de ácido ascórbico foi determinado de acordo com metodologia de Strohecker e Henning (1967). Amostras de 15 mL foram diluídas em balão volumétrico de 100 mL com ácido oxálico a 0,5% a 4 ° C e, em seguida, filtrada usando papel filtro Whatman (no. 1). Uma alíquota de 5 mL de filtrado foi titulado com indicador de 2,6-diclorofenol indofenol (DFI) até o ponto de viragem. O teor de ácido ascórbico foi expresso em mg de ácido ascórbico por 100 mL da amostra de suco. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

2.6 VARIAÇÃO TOTAL DE COR

A cor do suco de graviola foi determinada utilizando um colorímetro (Minolta, CR400, Japão). O colorímetro foi calibrado antes de fazer qualquer leitura. Os instrumentos de reflectância determinaram três parâmetros de cor: L* (luminosidade ou brilho), a* (vermelho/verde) e b* (cor amarela/cor azul). Os valores numéricos de L*, a* e b* foram convertidos em TCD (diferença total de cor), o que indica a magnitude da mudança de cor após o tratamento, usando a equação (4). O valor de referência para o TCD foi o suco não sonificado. Medições de cor foram feitas em quintuplicata.

$$TCD = \sqrt{(L^* - L_o^*)^2 + (a^* - a_o^*)^2 + (b^* - b_o^*)^2} \quad (4)$$

O subíndices o e s na equação 4 significam amostra controle (não tratada) e sonicada, respectivamente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das respostas atividade residual da polifenoloxidase (PPO_{AR}), diferença de temperatura (ΔT), conteúdo de fenólicos totais, conteúdo de ácido ascórbico (AA) e diferença total de cor (TCD), de acordo com o delineamento experimental proposto, encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7: Delineamento experimental e valores das respostas após aplicação de ultrassom no suco de graviola.

Tratamento	Intensidade de ultrassom (W/cm^2)	Tempo (min)	Atividade residual da PPO (%)	ΔT ($^{\circ}C$)	Conteúdo de fenólicos totais ($\mu g/100$ mL)	Conteúdo de Ácido Ascórbico ($mg/100$ mL)	TCD
Controle	-	-	-	-	34,63 $\pm$ 1,21	8,92 $\pm$ 0,60	-
1	118	3	92,57 $\pm$ 0,44	4,40	28,13 $\pm$ 0,10	8,92 $\pm$ 0,00	0,57
2	330	3	91,99 $\pm$ 0,17	35,0	23,60 $\pm$ 0,94	7,73 $\pm$ 0,00	2,58
3	118	9	92,42 $\pm$ 0,90	1,00	25,45 $\pm$ 0,35	9,51 $\pm$ 0,31	0,40
4	330	9	85,27 $\pm$ 1,71	43,9	24,76 $\pm$ 0,20	7,73 $\pm$ 0,05	1,84
5	224	6	94,72 $\pm$ 0,83	32,2	24,72 $\pm$ 0,35	10,70 $\pm$ 0,09	1,29
6	224	6	95,42 $\pm$ 0,02	35,1	28,15 $\pm$ 0,07	10,70 $\pm$ 0,11	1,24
7	224	6	95,28 $\pm$ 0,91	36,5	28,87 $\pm$ 1,06	10,11 $\pm$ 0,63	1,27
8	75	6	90,49 $\pm$ 0,23	4,10	33,81 $\pm$ 0,60	5,95 $\pm$ 0,51	0,57
9	373	6	85,84 $\pm$ 1,02	30,5	31,66 $\pm$ 0,71	7,14 $\pm$ 0,37	2,51
10	224	2	98,58 $\pm$ 0,08	3,60	31,20 $\pm$ 0,47	8,92 $\pm$ 0,08	0,92
11	224	10	89,13 $\pm$ 0,33	40,6	27,35 $\pm$ 1,52	8,83 $\pm$ 0,013	1,96

ΔT = Variação de temperatura; TCD = variação total de cor

3.1.1 ATIVIDADE RESIDUAL DA POLIFENOLOXIDASE

Polifenoloxidase (PPO) é uma enzima que contém cobre, que provoca escurecimento enzimático em frutas frescas, hortaliças e sucos. O escurecimento enzimático é um dos maiores problemas enfrentados durante o processamento destes (Yemenicioglu & Cemeroglu, 2003).

A atividade da polifenoloxidase de suco de graviola fresca e as respostas de cada ensaio do projeto experimental são apresentadas na Tabela 6, onde se observa que houve redução da atividade de polifenoloxidase em todo o domínio experimental, mesmo para os tempos de processamento e intensidades de potência baixas. Esses resultados estão de acordo com o relato de Fonteles *et al.* (2012) para o suco de melão após aplicação do ultrassom. Para o suco de graviola, os ensaios 4 e 9 apresentaram a

maior redução da atividade da PPO, alcançando 85,27% e 85,84%, respectivamente (Tabela 6). Contudo, a atividade da PPO da amostra controle foi 291,96 UAE/mL, valor considerado baixo se comparado com outras frutas como: pêssego (476 UAE/mL) e maçã (1499 UAE/g fruta fresca) (Rocha & Moraes, 2001).

Os resultados da análise estatística, aplicados aos dados experimentais da atividade residual da enzima polifenoloxidase no suco de graviola são apresentados na Tabela 8. Todos os coeficientes de regressão dos fatores lineares (L), quadráticos (Q) e da interação são significativos a 95% de confiança ($p \leq 0,05$). O termo quadrático da intensidade de potência, seguido do termo linear do tempo foram os que mais influenciaram essa resposta.

Tabela 8. Coeficiente de regressão, erro, coeficiente t e grau de significância estatística (p), para cada fator no modelo codificado para atividade residual de polifenoloxidase no suco de graviola após tratamento com ultrassom.

Fatores	Coeficiente de regressão	Erro Padrão	$t(2)$	Significância Estatística (p)
Intensidade de potência (L)	-1,79114	0,131153	-13,6569	0,005319
Intensidade de potência (Q)	-3,61554	0,156500	-23,1025	0,001868
Tempo (L)	-2,53184	0,131153	-19,3045	0,002673
Tempo (Q)	-0,75351	0,156500	-4,8148	0,040532
Intensidade de potência x tempo	-1,64250	0,185203	-8,8687	0,012477

Verificou-se a significância da regressão a 95% de confiança ($p \leq 0,05$), através do teste F, na análise de variância (ANOVA). A Tabela 9 apresenta os valores calculados e tabelados de F. O coeficiente de determinação (R^2) para o modelo ajustado foi de 0,9635, indicando que o modelo explicou 96% da variação dos dados observados. O modelo apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança ($F_{\text{calculado}}$ superior ao F_{Tabelado}). Sendo assim, o modelo ajustado para a atividade residual de polifenoloxidase foi considerado preditivo.

Tabela 9. Análise de variância (ANOVA) do modelo ajustado para atividade residual de polifenoloxidase

	SQ	GL	MQ	F_{calculado}	F_{Tabelado}*
Regressão	161,29	5	32,26	26,39	5,05
Resíduo	6,11	5	1,22		
Falta de Ajuste	5,84	3			
Erro puro	0,27	2			
Total	167,40	10			

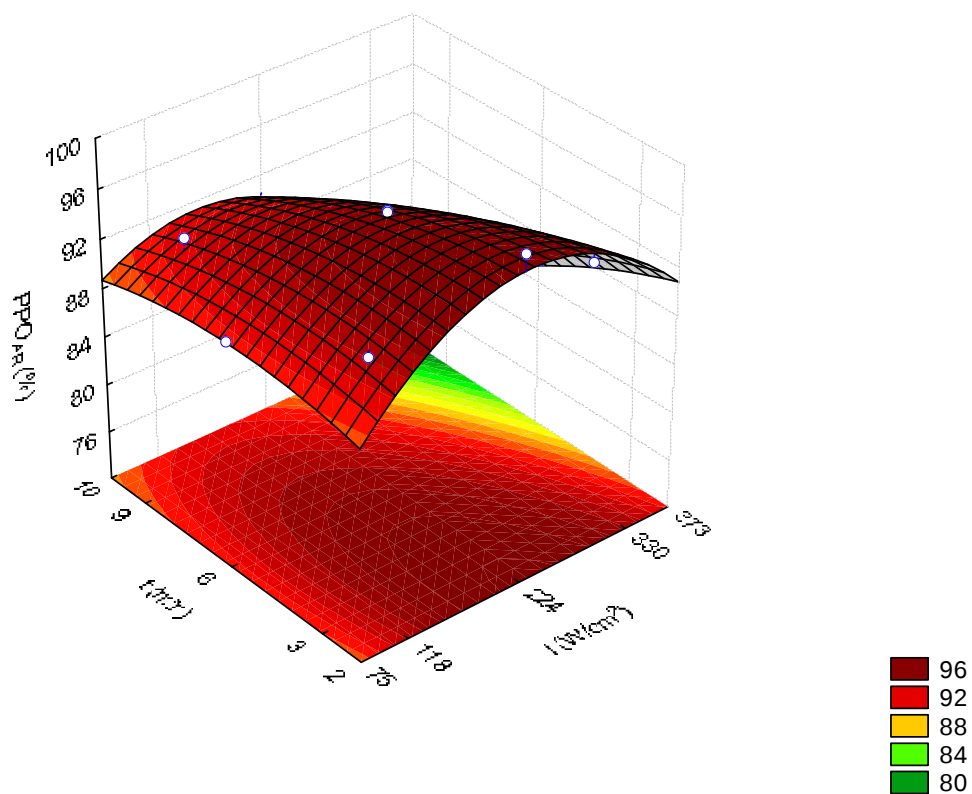
*Valores Tabelados de F a $p < 0,05$.

SQ = soma quadrática, GL = grau de liberdade, MQ = média quadrática

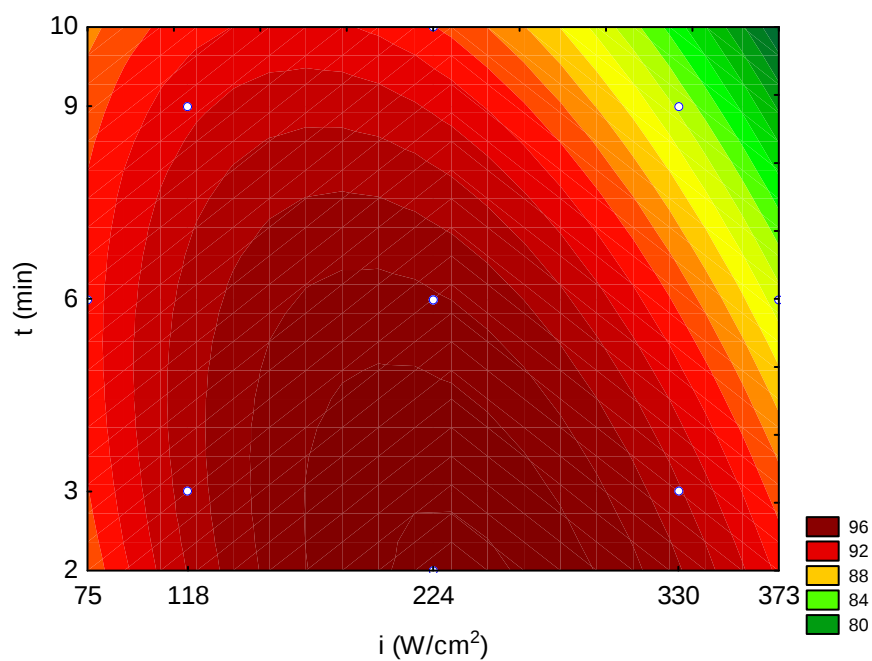
O modelo codificado proposto para representar a atividade residual de polifenoloxidase do suco de graviola após aplicação do ultrassom, dentro dos limites de intensidade de potência (i) e tempo de processamento (t) estudado, é descrito pela Equação 6:

$$PPO_{RA} = 95,14 - 1,79i - 2,53t - 3,61i^2 - 0,75t^2 - 1,64it \quad (6)$$

A Figura 3 mostra a superfície de resposta e a curva de nível, geradas através do modelo proposto. Pode-se observar que o processamento nas maiores potências e tempos resultam em menor atividade residual da polifenoloxidase. De acordo com a literatura, a inativação de enzimas monoméricas geralmente envolve desfragmentação da enzima ou formação de agregados, enquanto que enzimas poliméricas tendem a fragmentar em subunidades monoméricas, durante a ultrassonicação. A inativação de enzimas por meio de ultrassom é atribuída, principalmente, ao fenômeno da cavitação. Os efeitos da cavitação gerados pelo colapso de bolhas (mecânico, térmico e químico) podem ser suficientes para causar destruição e inativação irreversíveis de enzimas (Mawson *et al.*, 2011). Ainda, a agitação extrema criada pela microcorrente poderia desfazer ligações de Van der Waals e pontes de hidrogênio no polipeptídeo, causando desnaturação proteica (Tian *et al.*, 2004).



(a)



(b)

Figura 3. Superfície de resposta (a) e curva de nível (b) para a atividade residual de polifenoloxidase no suco de graviola após tratamento com ultrassom

Geralmente, a ultrassonicação combinada com outros tratamentos é mais efetiva no aumento da inativação da enzima. Em particular, aplicações simultâneas de baixa intensidade do ultrassom e calor moderado e/ou pressão são descritos para aumentar a eficiência da inativação de várias enzimas em alimentos. Porém, a sensibilidade pode variar entre as enzimas. Por exemplo, o efeito sinérgico da combinação do ultrassom (20 kHz, 65 mm amplitude) e calor (50-75°C) sobre a inativação da pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG) em suco de tomate foi relatada por Terefe *et al.* (2009). A termossonicação aumenta o intervalo de inativação da PME de 1,5-6 e para a PG de 2,3-4 acima de 50-75°C, com o maior aumento correspondente para a menor temperatura. Ganjloo *et al.* (2008) compararam o branqueamento ultrassônico (20 kHz, 25% intensidade de potência, 80-95°C) com branqueamento em água quente e verificaram que o tratamento combinado resultou em uma inativação mais rápida e efetiva da peroxidase de goiaba sem sementes para temperatura e tempo compatíveis.

Jang & Moon (2011) estudaram a inativação da PPO e POD (peroxidase) em maçãs por meio do uso combinado do tratamento ultrassônico e ácido ascórbico. Os resultados mostraram que o uso isolado do ultrassom não foi efetivo na inativação das enzimas, levando a um ligeiro aumento da atividade da PPO. Por outro lado, tratamento com uso simultâneo de ultrassom e ácido ascórbico apresentou efeito sinérgico inibitório sobre enzimas envolvidas no escurecimento da fruta.

Sala *et al.* (1995) relataram o uso do ultrassom associado com o calor para reduzir a severidade do tratamento térmico. Entretanto, no nosso estudo foi observada uma boa inativação da enzima sem o uso de aditivos químicos ou aquecimento externo.

3.1.2 CONTEÚDO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

Em relação aos compostos fenólicos, os coeficientes de regressão lineares, quadráticos e da interação não foram estatisticamente significativos em um nível de confiança de 95%. Assim, a metodologia de superfície de resposta não foi aplicada para analisar os dados experimentais dessa resposta.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 6, percebe-se uma redução nos níveis de fenólicos totais em todos os ensaios realizados. Essa redução foi de até 31,85%. Quando foi utilizada a maior intensidade de potência (ensaio 9), observou-se boa retenção de compostos fenólicos (91,4 %), entretanto a maior retenção de fenólicos (97,6 %) foi alcançada no tratamento 8, que tinha condições de tempo de aplicação do ultrassom intermediária e baixa intensidade de potência. Estudo realizado por Fonteles

et al. (2012) com suco de melão também apresentou comportamento semelhante. Esta redução pode estar associada à formação de radicais livres, que podem ter afetado os compostos fenólicos do suco de graviola, uma vez que radicais –OH formados durante a aplicação do ultrassom podem afetar compostos bioativos como os fenólicos (WAN *et al.*, 2005). Resultados similares também foram obtidos por Dubrovic *et al.* (2011) e Rawson *et al.* (2011), que estudaram os efeitos do ultrassom nos sucos de morango e melancia, respectivamente. Dubrovic *et al.* (2011) relataram que as bolhas formadas no processo de sonicação podem conter vapor de água ou outros gases dissolvidos no suco, como O₂ e N₂, que podem ter favorecido a degradação oxidativa dos compostos fenólicos.

3.1.3 CONTEÚDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO (AA)

O ácido ascórbico é termolábil e altamente sensível à luz, bem como a várias condições de processamento, em que o mecanismo de degradação seja por via aeróbia e ou via anaeróbia (Vieira *et al.*, 2000).

Dentre os 11 tratamentos realizados no suco de graviola, 6 apresentaram um aumento ou manutenção no teor de ácido ascórbico quando comparado ao valor do suco controle (Tabela 7). Resultados similares foram obtidos para os sucos de goiaba (Cheng *et al.*, 2007), de toranja (Aadil *et al.*, 2013) e de limão (Bhat *et al.*, 2011). Observa-se, ainda, uma redução nos níveis deste conteúdo apenas nos ensaios de 2, 4, 8, 9 e 11. No entanto, esta redução foi de menos de 34% do teor inicial de ácido ascórbico do suco controle.

Os resultados da análise estatística aplicados aos dados experimentais do teor de ácido ascórbico no suco de graviola são apresentados na Tabela 10. Apenas os termos quadráticos de intensidade de potência e tempo de processamento (em negrito) foram significativos a 95% de confiança ($p \leq 0,05$) e, portanto, considerados no modelo

Tabela 10: Coeficiente de regressão, erro, coeficiente t e grau de significância estatística (p), para cada fator no modelo codificado para teor de ácido ascórbico no suco de graviola após tratamento com ultrassom.

Fatores	Coeficiente de regressão	Erro Padrão	t(2)	Significância Estatística (p)
Intensidade de potência (L)	-0,16199	0,120613	-1,3431	0,311360
Intensidade de potência (Q)	-1,79350	0,143922	-12,4615	0,006378
Tempo (L)	0,05806	0,120613	0,4814	0,677771
Tempo (Q)	-0,62152	0,143922	-4,3185	0,049662
Intensidade de potência x tempo	-0,14750	0,170318	-0,8660	0,477767

Verificou-se a significância da regressão a 95% de confiança ($p \leq 0,05$), através do teste F, na análise de variância (ANOVA). A Tabela 11 apresenta os valores calculados e tabelados de F. O coeficiente de determinação (R^2) para o modelo ajustado foi de 0,7996 indicando que o modelo explicou quase 80% da variação dos dados observados. O modelo apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança ($F_{\text{calculado}}$ superior ao F_{Tabelado}). Sendo assim, o modelo ajustado para o teor de ácido ascórbico foi considerado preditivo.

Tabela 11: Análise de variância (ANOVA) do modelo ajustado para teor de ácido ascórbico

	SQ	GL	MQ	$F_{\text{calculado}}$	F_{Tabelado}^*
Regressão	18,08	2	9,04	15,96	4,46
Resíduo	4,53	8	0,57		
Falta de Ajuste	4,30	6			
Erro	0,23	2			
Total	22,61	10			

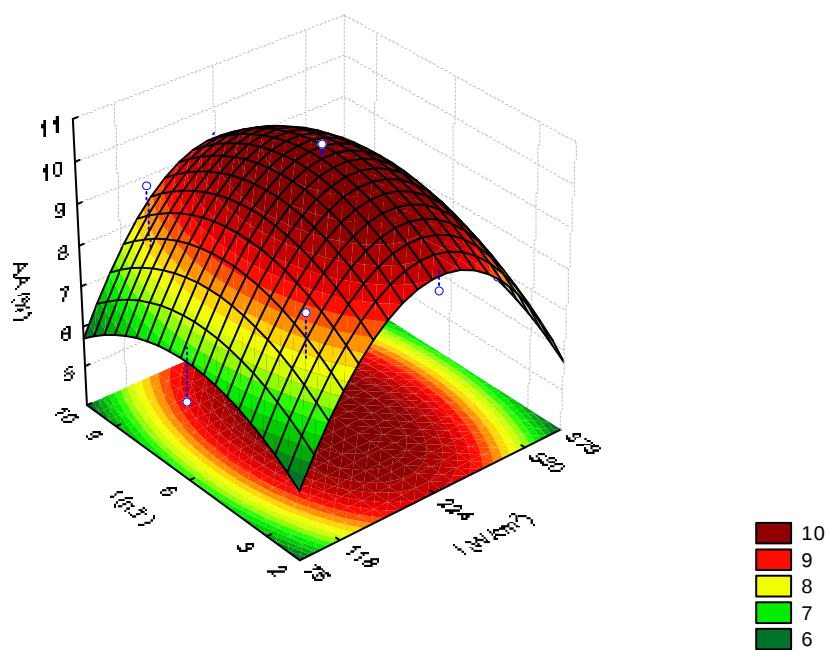
*Valores Tabelados de F a $p < 0,05$.

SQ = soma quadrática, GL = grau de liberdade, MQ = média quadrática

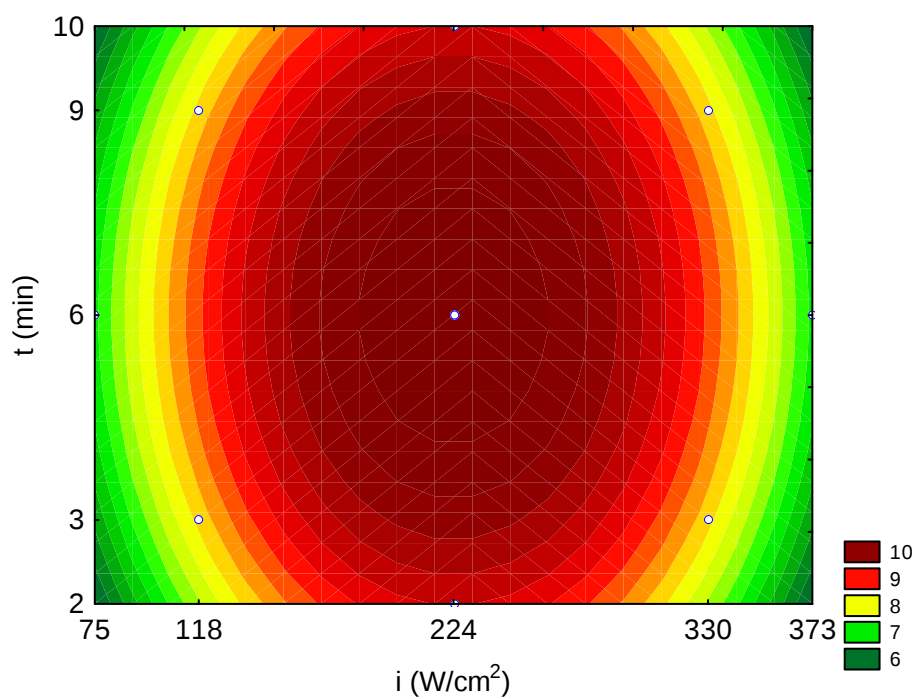
O modelo codificado proposto para representar o teor de ácido ascórbico do suco de graviola após aplicação do ultrassom, dentro dos limites de intensidade de potência (i) e tempo de processamento (t) estudado, é descrito pela Equação 7:

$$AA = 10,50 - 1,79i^2 - 0,62t^2 \quad (7)$$

A Figura 4 mostra a superfície de resposta e a curva de nível geradas a partir do modelo proposto. É possível perceber que intensidades mais elevadas de potência de ultrassom (maior que 330 W/cm^2) ou intensidades mais baixas (abaixo de 118 W/cm^2), independente do tempo de processamento, resultaram em uma redução do teor de ácido ascórbico inicial do suco de graviola. Estudos relatam a degradação de ácido ascórbico em suco de fruta depois de tratamentos de sonicação (Adekunte *et al.*, 2010). No entanto, nesse estudo foi observado um aumento significativo no teor de ácido ascórbico depois de alguns tratamentos de sonicação, principalmente quando intensidade intermediária de ultrassom foi utilizada (Figura 4). Resultados similares foram encontrados para sucos de toranja e de “kasturi lime” sonicado, no qual foi observada um aumento no conteúdo de ácido ascórbico (Aadil *et al.*, 2013;.. Bhat *et al.*, 2011;. Cheng *et al.*, 2007). Esse aumento deve-se ao fato do ultrassom favorecer a eliminação do oxigênio dissolvido durante a cavitação, pois esse está relacionado ao mecanismo de degradação do ácido ascórbico (Cheng *et al.*, 2007; Bhat *et al.*, 2011; Aadil *et al.*, 2013).



(a)



(b)

Figura 4. Superfície de resposta (a) e curva de nível (b) para teor de ácido ascórbico no suco de graviola após tratamento com ultrassom

3.1.4 VARIAÇÃO DE TEMPERATURA (ΔT)

A temperatura do suco após a aplicação do ultrassom confirma o fenômeno de cavitação (colapso e implosão de bolhas), aumentando no final do processo. Resultados similares foram obtidos por Costa *et al.* (2013) para o suco de abacaxi e por Fonteles *et al.* (2012) para o suco de melão.

Os resultados da análise estatística aplicados aos dados experimentais da variação de temperatura no suco de graviola são apresentados na Tabela 12. Os coeficientes de regressão dos fatores lineares, quadráticos são significativos a 95% de confiança ($p \leq 0,05$) para a intensidade e para o tempo. No entanto, o termo que representa a interação entre esses fatores não foram significativos, portanto não foi utilizado no modelo.

Tabela 12: Coeficiente de regressão, erro, coeficiente t e grau de significância estatística (p), para cada fator no modelo codificado para variação de temperatura no suco de graviola após tratamento com ultrassom.

Fatores	Coeficiente de regressão	Erro Padrão	t(2)	Significância Estatística (p)
Intensidade de potência (L)	13,88180	0,776559	17,87604	0,003115
Intensidade de potência (Q)	-8,33063	0,926637	-8,99018	0,012148
Tempo (L)	7,23026	0,776559	9,31064	0,011340
Tempo (Q)	-5,91627	0,926637	-6,38466	0,023664
Intensidade de potência x tempo	3,07500	1,096586	2,80416	0,107124

Verificou-se a significância da regressão a 95% de confiança ($p \leq 0,05$), através do teste F, na análise de variância (ANOVA). A Tabela 13 apresenta os valores calculados e tabelados de F. O coeficiente de determinação (R^2) para o modelo ajustado foi de 0,8318, indicando que o modelo explicou cerca de 83 % da variação dos dados observados. O modelo apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança ($F_{\text{calculado}}$ superior ao F_{Tabelado}). Sendo assim, o modelo ajustado para a variação de temperatura foi considerado preditivo.

Tabela 13: Análise de variância (ANOVA) do modelo ajustado para variação de temperatura

	SQ	GL	MQ	F _{calculado}	F _{Tabelado*}
Regressão	2417,29	4	604,32	7,42	4,53
Resíduo	488,79	6	81,47		
Falta de Ajuste	479,17	4			
Erro	9,62	2			
Total	2906,09	10			

O modelo codificado proposto para representar a variação de temperatura do suco de graviola após aplicação do ultrassom, dentro dos limites de intensidade de potência (i) e tempo de processamento (t) estudado, é descrito pela Equação 8.

$$\Delta T = 34,59 + 13,88i - 8,33t + 7,23i^2 - 5,91t^2 \quad (8)$$

A Figura 5 mostra a superfície de resposta e a curva de nível geradas a partir do modelo proposto. Observa-se que quando as maiores potências são utilizadas, têm-se as maiores diferenças de temperatura, principalmente quando o suco é submetido ao ultrassom por tempos maiores. Essas são as mesmas condições em que a atividade residual de polifenoloxidase foi reduzida. Resultados semelhantes foram obtidos por Fonteles *et al.* (2012) para o suco de melão, que observaram que o ultrassom pode ter causado um efeito sinérgico na desnaturação da enzima.

O aumento da temperatura de 60°C foi alcançado combinando intensidade e tempo de processamento máximos. A atividade residual de PPO obtida mantendo o suco de graviola a 60°C por 10 min, porém sem a aplicação do ultrassom, foi de 91,80%. Dessa forma, observa-se que a mais alta temperatura registrada após a sonicação do suco não foi capaz de desnaturar a PPO, mostrando que a inativação mostrada na Figura 3 deve-se principalmente à sonicação.

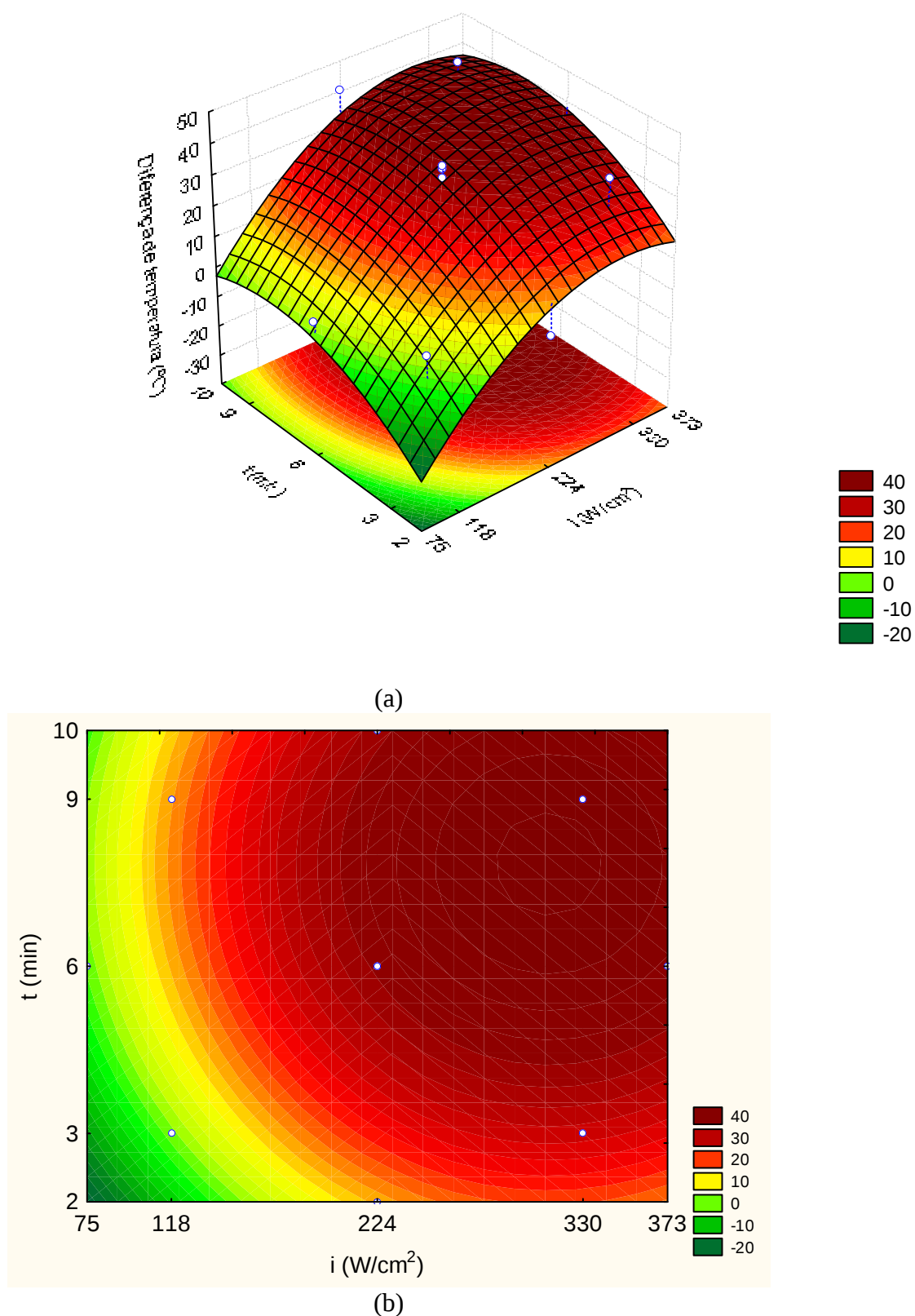


Figura 5: Superfície de resposta (a) e curva de nível (b) para variação de temperatura no suco de graviola após tratamento com ultrassom

3.1.5 VARIAÇÃO TOTAL DE COR (TCD)

A cor é um indicador visual para julgar a qualidade de sucos de frutas e desempenha um papel importante na satisfação do consumidor (AADIL *et al.*, 2013). A cor pode destacar o nível de aceitação e pode servir como um indicador de qualidade microbiológica durante o processamento e armazenamento de sucos de frutas (BHAT *et al.*, 2011).

Os resultados da análise estatística, aplicados aos dados experimentais da variação de cor (TCD) no suco de graviola são apresentados na Tabela 14. Os coeficientes de regressão dos fatores potência linear e quadrático, tempo linear e a interação entre a intensidade de potência e o tempo são significativos a 95% de confiança ($p \leq 0,05$). Apenas o coeficiente de regressão do fator tempo quadrático não foi significativo, portanto não foi utilizado no modelo.

Tabela 14: Coeficiente de regressão, erro, coeficiente *t* e grau de significância estatística (*p*), para cada fator no modelo codificado para variação de cor no suco de graviola após tratamento com ultrassom.

Fatores	Coeficiente de regressão	Erro Padrão	t(2)	Significância Estatística (<i>p</i>)
Intensidade de potência (L)	0,775961	0,009738	79,6859	0,000157
Intensidade de potência (Q)	0,100692	0,011620	8,6656	0,013057
Tempo (L)	0,070060	0,009738	7,1946	0,018776
Intensidade de potência x tempo	-0,142250	0,013751	-10,3449	0,009215

Verificou-se a significância da regressão a 95% de confiança ($p \leq 0,05$), através do teste F, na análise de variância (ANOVA). A Tabela 15 apresenta os valores calculados e tabelados de F. O coeficiente de determinação (R^2) para o modelo ajustado foi de 0,8574, indicando que o modelo explicou aproximadamente 86% da variação dos dados observados. O modelo apresentou regressão significativa ao nível de 95% de confiança ($F_{\text{calculado}}$ superior ao F_{Tabelado}). Sendo assim, o modelo ajustado para a variação de cor foi considerado preditivo.

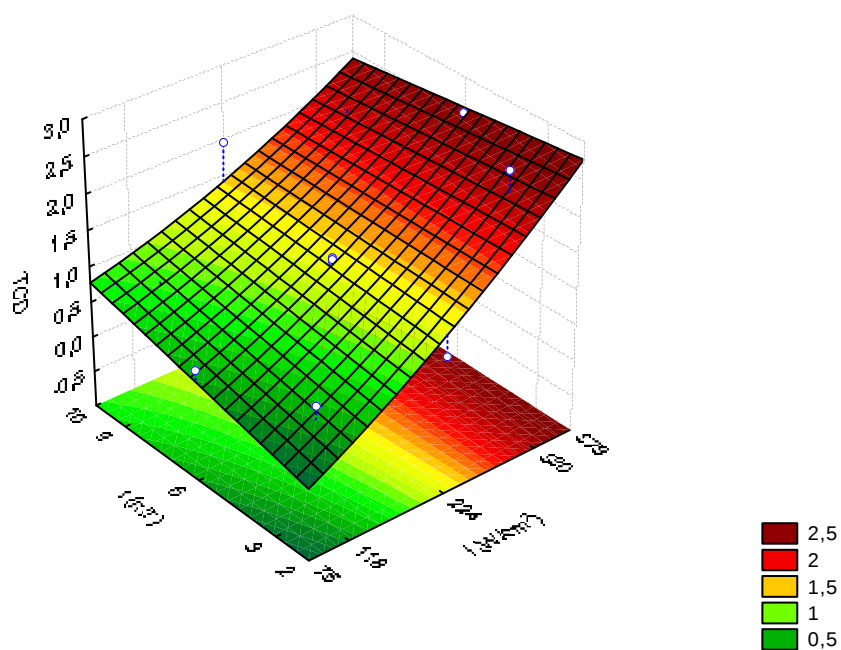
Tabela 15: Análise de variância (ANOVA) do modelo ajustado para variação de cor

	SQ	GL	MQ	F _{calculado}	F _{Tabelado} *
Regressão	4,97	4	1,24	9,02	4,53
Resíduo	0,83	6	0,14		
Falta de Ajuste	0,82	4	0,21		
Erro	0,002	2	0,001		
Total	5,79	10			

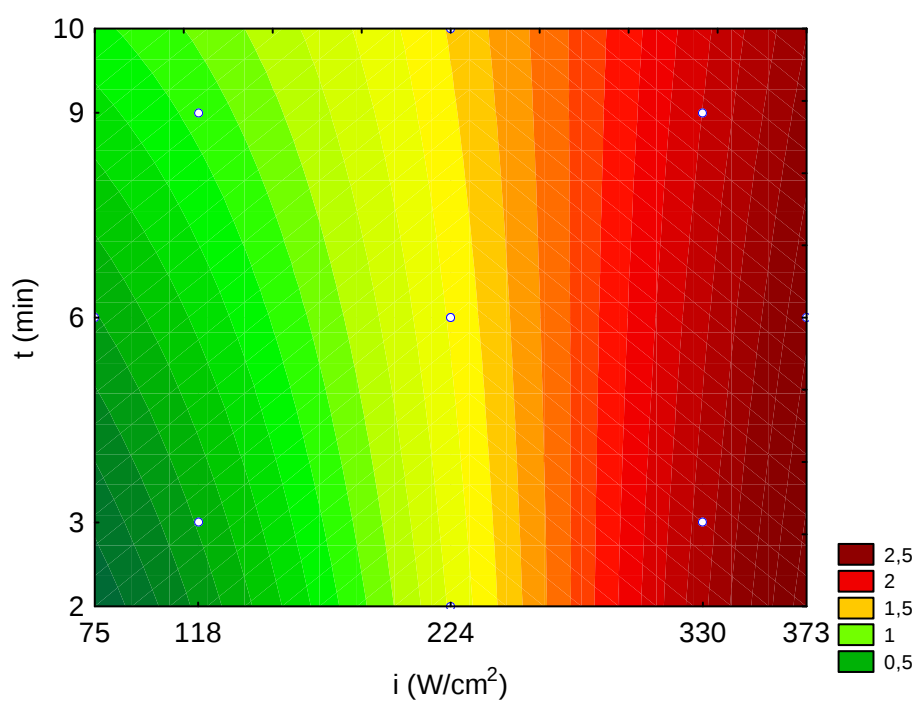
O modelo codificado proposto para representar a variação total de cor do suco de graviola após aplicação do ultrassom, dentro dos limites de intensidade de potência (i) e tempo de processamento (t) estudado, é descrito pela Equação 9.

$$TCD = 1,26 - 0,77i - 0,07t - 0,10i^2 - 0,14it \quad (9)$$

A Figura 6 mostra a superfície de resposta e a curva de nível geradas a partir do modelo proposto. Percebe-se que a utilização do ultrassom resultou em um aumento da diferença de cor, uma vez que quando as maiores potências são utilizadas, têm-se maior variação total de cor. A cor do suco de graviola é geralmente influenciada pela existência de pigmentos naturais, que por sua vez é dependente do estágio de maturação das frutas, das condições de conservação empregadas, atividade enzimática e contaminação microbiana. As alterações de cor observadas neste estudo podem ter sido causadas pela cavitação, que governa várias reações físicas, químicas e biológicas, tais como a aceleração da decomposição química de partículas suscetíveis, como enzimas e microrganismos (SALA *et al.*, 1995). Tal como observado por Mason (1991), a degradação da cor em amostras de suco sonicadas pode ser atribuída à isomerização acelerada dos carotenóides, bem como as reações de oxidação que ocorrem como um resultado da interação com os radicais livres gerados durante o tratamento de sonicação. Tem sido relatado cavitação induzida durante a sonicação como forma de contribuir para as alterações ocorridas na cor dos sucos de frutas (CHENG *et al.*, 2007; TIWARI *et al.*, 2008).



(a)



(b)

Figura 6: Superfície de resposta (a) e curva de nível (b) para variação de cor (TCD) no suco de graviola após tratamento com ultrassom

Fonteles *et al.* (2012) perceberam diferenças na cor do suco de melão (aumento dos parâmetros b^* e a^*) tratados com ultrassom nas maiores intensidades de tempo e potência (376 W/cm^2 durante 10 minutos). Essas diferenças foram consideradas positivas visto que houve um aprimoramento da cor. Durante o processo de sonicação, há uma ruptura das membranas celulares que formam complexos carotenoide-proteína que conferem uma maior homogeneização e intensificação da cor laranja do suco.

Estudos mostram que o tratamento ultrassônico pode melhorar a qualidade de sucos por manter compostos bioativos como antocianinas (TIWARI *et al.*, 2009) e β -caroteno (SUN *et al.*, 2010). Isso pode ser explicado pela formação de grandes bolhas durante a cavitação que, na maior intensidade de potência e tempo, sofreriam colapso menos violento, reduzindo os efeitos da cavitação.

Costa *et al.* (2013) mostraram que o suco de abacaxi sonicado apresentou maior estabilidade de cor que o não sonicado. Esse comportamento pode ser atribuído à menor atividade da polifenoloxidase e menor disponibilidade de oxigênio nas amostras sonicadas, pois esse processo promove a desgaseificação de líquidos.

Embora os tratamentos sonicação tenham induzido alterações na cor de suco de graviola, essas mudanças não foram facilmente visualizadas a olho nu. Portanto, sugere-se que a técnica de ultrassom pode ser empregada para o processamento de suco de graviola.

4. CONCLUSÕES

Os efeitos da intensidade ultrassom e o tempo de processamento na atividade residual da polifenoloxidase (PPO), variação de temperatura, conteúdo de compostos fenólicos totais, conteúdo de ácido ascórbico (AA) e diferença de cor total (TCD) foram investigados. Modelos de regressão preditivos foram desenvolvidos para a estimativa da atividade residual da PPO, aumento da temperatura, teor de AA e TCD. O coeficiente de regressão (R^2) para os modelos previstos apresentaram boa correlação com os dados experimentais a um nível de confiança de 95%. Este trabalho demonstra que o ultrassom influencia significativamente os parâmetros de qualidade de suco de graviola e que a metodologia de superfície de resposta pode ser usada para otimizar parâmetros críticos do processo. A condição experimental que favoreceu a diminuição da atividade da PPO foi a utilização de altas intensidade de potência e tempo de processamento. Apesar do fato de que o ultrassom não ter sido capaz de alcançar a inativação total de PPO, o

tratamento térmico a temperatura mais alta alcançada com a sonicação não mostrou nenhum efeito sobre a inativação de enzimas, atestando assim que o ultrassom é um bom tratamento não-térmico para suco de graviola. As mudanças de cor observadas durante a sonicação foram sutis, indicando que não há grandes mudanças na aparência do suco de frutas. Embora a sonicação tenha causado alguma degradação do ácido ascórbico em algumas condições de processamento, esta tecnologia pode ser adequada para o processamento para obter suco de graviola com altos níveis de retenção de compostos bioativos e baixa atividade residual de PPO e alterações de cor.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES e FACEPE pela concessão das bolsas.

REFERÊNCIAS

- Aadil, R.M., Zeng, X.A., Han, Z., & Sun, D.W. (2013). Effect of ultrasound treatments on quality of grapefruit juice. *Food Chemistry*, 141, 3201-3206.
- Adekunte, A.O., Tiwari, B.K., Cullen, P.J., Scannell, A.G.M., & O'Donnell, C.P. (2010). Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chemistry*, 122, 500-507.
- Bhat, Rajeev.; Karamuddin, N. S. B. C.; Min-Tze, L.; Karim, A. A. (2011) Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 1295–1300.
- Cheng, L.H., Soh, C.Y., Liew, S.C., & The, F.F. (2007). Effects of sonication and carbonation on guava juice quality. *Food Chemistry*, 104, 1396–1401.
- Costa, M.G.M., Fonteles, T.V., Jesus, A.L.T., Almeida, F.D.L., Fernandes, F.A.N., & Rodrigues, S. (2013). High-intensity ultrasound processing of pineapple juice. *Food Bioprocess Technology*, 6, 997–1006.
- Dubrović, I., Herceg, Z., Jambrak, A. R., Badanjak, M., & Dragović-Uzelac, V. (2011). Effect of high intensity ultrasound and pasteurization on anthocyanin content in strawberry juice. *Food Technology and Biotechnology*, 49, 196–204.
- Fonteles, T.V., Costa, M.G.M., Jesus, A.L.T., Miranda, M.R.A., Fernandes, F.A.N., & Rodrigues, S. (2012). Power ultrasound processing of cantaloupe melon juice: effects on quality parameters. *Food Research International*, 48, 41–48.
- Ganjloo, A., Rahman, R. A., Bakar, J., Osman, A., & Bimakr, M. (2008). Feasibility of high-intensity ultrasonic blanching combined with heating for peroxidase inactivation of seedless guava (*Psidium guajava* L.). In “Proceedings of the 18th National Congress in Food Technology”, Mashhad, Iran.

- Jang, J. H., & Moon, K. D. (2011). Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. *Food Chemistry*, 124, 444–449.
- Khuri, A.J., & Cornell, F.A. (1996). *Response surfaces: design and analyses*. New York: Mercel Dekker. 510p.
- Mason, T.J. (1991) *Practical sonochemistry: user's guide to application in chemistry and chemical engineering*, 22–25, Ellis Horwood, UK, pp. 1–150.
- Mawson, R., Gamage, M., Terefe, M. S., & Knoerzer, K. (2011). Ultrasound in enzyme activation and inactivation. In H. Feng, G. V. Barbosa-C_anoas, & J. Weiss (Eds.), *Ultrasound technologies for food and bioprocessing* (pp. 369e404). USA: Springer.
- O'Donnell, C.P., Tiwari, B.K., Bourke, P., & Cullen, P.J. (2010). Effect of ultrasonic processing on food ezymes of industrial importance. *Trends in Food Science and Technology*, 21, 358-367.
- Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2008). The role of peroxidase on the antioxidant potential of fresh-cut 'Piel de Sapo' melon packaged under different modified atmosphere. *Food Chemistry*, 106, 1085–1092.
- Pereira, R. N., & Vicente, A. A. (2010). Environmental impact of novel thermal and nonthermal technologies in food processing. *Food Research International*, 43, 1936–1943.
- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A.S., & Chemat, F. (2013). Degradation during application of ultrasound in food processing: a review. *Food Control*, 31, 593-606.
- Rawson, A., Patras, A., Tiwari, B. K., Noci, F., Koutchma, T., & Brunton, N. B. K. (2011). Effect of thermal and nonthermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. *Food Research International*, 44, 1875–1887.
- Rocha, A. M. C. N., & Morais, A. M. M. B. (2001). Characterization of polyphenoloxidase (PPO) extracted from 'Jonagored' apple. *Food Control*, 12, 85–90.
- Sala, F. J., Burgos, J., Condón, S., Lopez, P., & Raso, J. (1995). Effect of heat and ultrasound on microorganisms and enzymes. In G. W. Gould (Ed.), *New methods of food preservation* (pp. 177–204). London: Blackie Academic & Professional.
- Shashirekha, M. N., Baskaran, R., Rao, L. J., Vijayalakshmi, M. R., & Rajarathnam, S. (2008). Influence of processing conditions on flavour compounds of custard apple (*Annona squamosa* L.). *LWT – Food Science and Technology*, 41, 236–243.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., & Lamuela, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteau reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.

Strohecker, R., & Henning, H. (1967). Analisis de vitaminas: métodos comprobados. Madrid: Paz Montalvo. 428p

Sun, Y., Ma, G., Ye, X., Kakuda, Y., & Meng, R. (2010) Stability of all-trans- β -carotene under ultrasound treatment in a model system: Effects of different factors, kinetics and newly formed compounds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17, 654–661.

Telis-Romero, J., Beristain, C.I., Gabas, A.L., & Telis, V.R.N. (2007). Effect of apparent viscosity on the pressure drop during fluidized bed drying of soursop pulp. *Chemical Engineering and Processing*, 46, 684–694.

Terefe, N. S., Gamage, M., Vilkh, K., Simons, L., Mawson, R., & Versteeg, C. (2009). The kinetics of inactivation of pectin methylesterase and polygalacturonase in tomato juice by thermosonication. *Food Chemistry*, 117, 20-27.

Tian, Z. M., Wan, M. X., Wang, S. P., & Kang, J. Q. (2004). Effects of ultrasound and additives on the function and structure of trypsin. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11, 399e404.

Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P., & Cullen, P.J. (2009). Effect of sonication on retention of anthocyanins in blackberry juice. *Journal of Food Engineering*, 93, 166–171.

Tiwari, B. K., Muthukumarappan, K., O'Donnell, C. P., & Cullen, P. J. (2008). Colour degradation and quality parameters of sonicated orange juice using response surface methodology. *LWT–Food Science and Technology*, 41, 1876–1883.

Vieira, M.C., Teixeira, A.A., & Silva, C.L.M. (2000). Mathematical modeling of the thermal degradation kinetics of vitamin in cupuacbu (*Theobroma grandiflorum*) nectar. *Journal of Food Engineering*, 43, 1–7.

Wan, J., Mawson, R., Ashokkumar, M., Ronacher, K., Coventry, M. J., Roginski, H. (2005). Emerging processing technologies for functional foods. *Australian Journal of Dairy Technology*, 60, 167–169.

Wissemann, K. W., & Lee, C. Y. (1980). Polyphenoloxidase activity during grape maturation and wine production. *American Journal of Enology and Viticulture*, 31, 206–211.

Yemenicioglu, A., & Cemeroglu, B. (2003). Consistency of polyphenol oxidase (PPO) thermostability in ripening apricots (*Prunus armeniaca* L.): evidence for the presence of thermostable PPO forming and destabilizing mechanisms in apricots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2371–2379.

Zheng, L., & Sun, D.W. (2006). Innovative applications of power ultrasound during food freezing process- A review. *Food Science and Technology*, 17, 16-23.

5.3. ANÁLISE SENSORIAL

A escolha do suco tratado para análise sensorial foi feita a partir dos resultados do delineamento experimental. Foi escolhido o tratamento 4 visto que apresentou menor atividade residual da PPO e menor valor de TCD. Nessa condição, a retenção de compostos fenólicos foi de 71,49% e a de ácido ascórbico foi de 86,65%. A análise dos dados obtidos foi feita por histogramas de frequência e pela análise de variância (ANOVA). Assim foi possível avaliar a influência do ultrassom na aceitação do suco de graviola, bem como a intenção de compra por parte dos consumidores.

As Figuras 7 a 10 mostram a distribuição das notas recebidas por cada uma das amostras para os atributos aparência, aroma, sabor e textura. Percebe-se que a maioria das notas recebidas para cada um dos atributos das amostras submetidas ao ultrassom situa-se na região indicativa de aprovação dos produtos, convergindo para o lado direito do histograma.

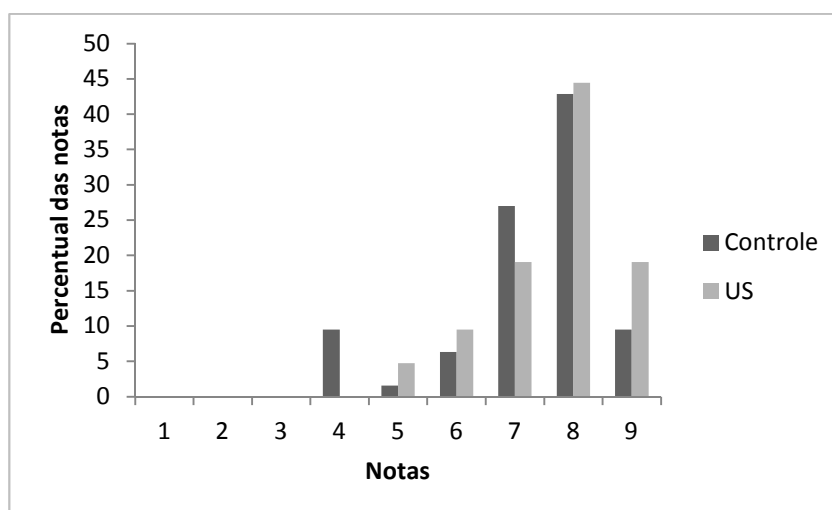


Figura 7: Histograma da frequência de notas pelo atributo aparência da análise sensorial do suco de graviola sonicado.

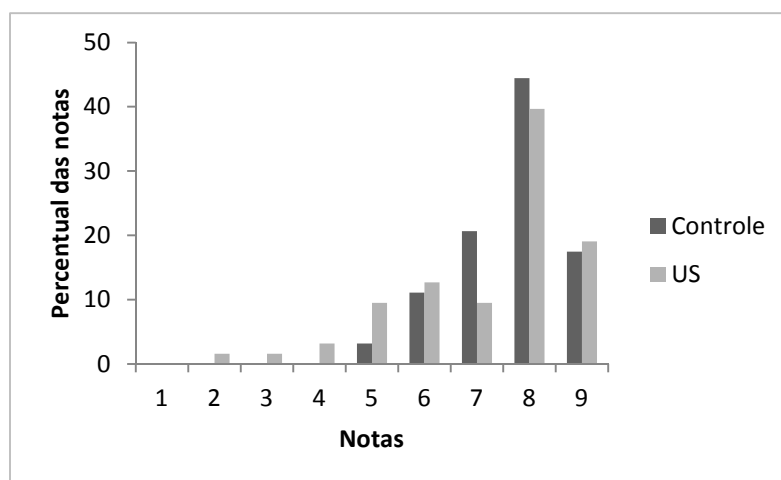


Figura 8: Histograma da frequência de notas pelo atributo aroma da análise sensorial do suco de graviola sonicado

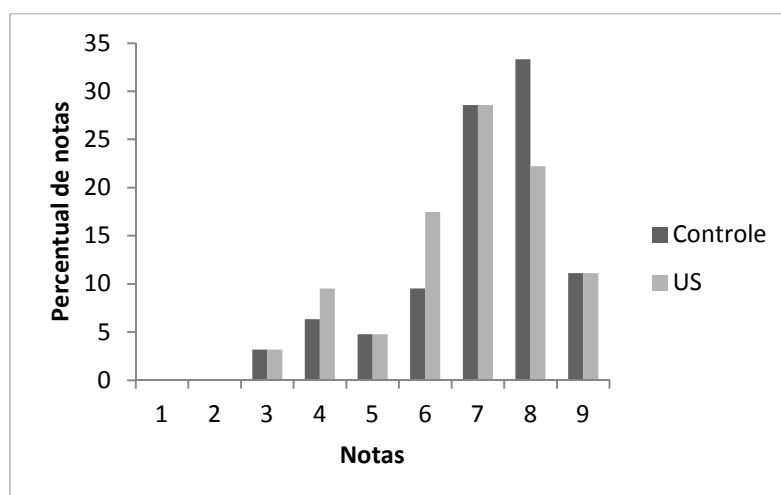


Figura 9: Histograma da frequência de notas pelo atributo sabor da análise sensorial do suco de graviola sonicado

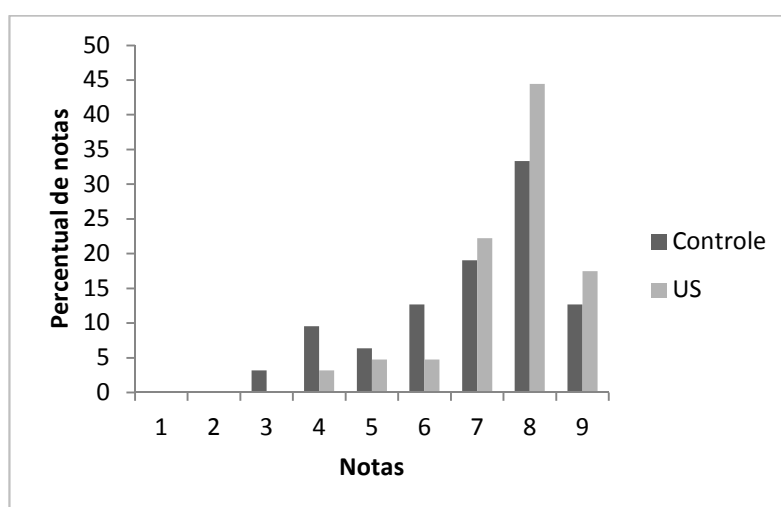


Figura 10: Histograma da frequência de notas pelo atributo textura da análise sensorial do suco de graviola sonicado

Nos histogramas apresentados nas Figuras 7 a 10 observa-se que a frequência da nota “9” (gostei extremamente) para todos os atributos da amostra ultrassom foi igual ou superior a amostra controle.

A aceitação média dos atributos aparência, aroma, sabor e textura de cada uma das amostras estudadas e os resultados da análise de variância são apresentados na Tabela 16. A amostra submetida ao ultrassom apresentou notas superiores a amostra controle em relação aos atributos aparência e textura, sendo que neste último atributo houve diferença significativas entre as amostras de sucos. As amostras não apresentaram diferença significativa nos atributos aparência, aroma e sabor.

Tabela 16: Médias das notas seguidas do desvio padrão para os atributos avaliados pelo teste afetivo de aceitação de suco de graviola sonicado.

Amostra	Atributos			
	Aparência	Aroma	Sabor	Textura
Controle	7,25±1,35 ^a	7,64±1,02 ^a	7,05±1,50 ^a	6,92±1,65 ^a
Ultrassom	7,66±1,06 ^a	7,23±1,64 ^a	6,75±1,57 ^a	7,57±1,19 ^b

Médias acompanhadas de letras iguais, na mesma coluna não diferem entre si significativamente (p >0,05)

O teste de comparação registrou comentários relevantes. A amostra controle foi relatada repetidas vezes como “mais doce” que a amostra submetida ultrassom, que foi considerada de sabor “mais azedo”, o que foi considerado positivo já que “ressaltava a característica” da graviola. Ainda, foi registrado que a textura da amostra ultrassom apresentava-se “mais consistente” em relação à amostra controle.

Na análise de intenção de compra a amostra controle obteve a menor rejeição por parte dos provadores (Figura 11). Contudo, a amostrada sonicada provocou uma atitude de compra positiva, apresentando também possibilidade de compra.

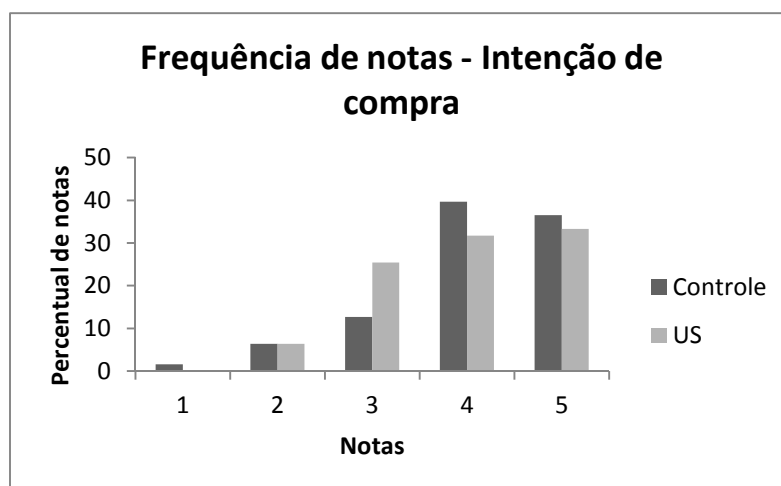


Figura 11: Histograma da frequência de notas para intenção de compra da análise sensorial do suco de graviola sonificado

Em teste de aceitabilidade de suco de amora sonificado em intervalos de tempo de 4, 8, 12, 21 e 32 minutos, os provadores reportaram que para amostras tratadas com ultrassom até 4 minutos não foram detectadas diferenças no sabor. Porém, para amostras tratadas acima de 8 minutos foi descrito sabor desagradável, relatado como “sabor cozido” (WONG *et al.*, 2010).

Comarella *et al.* (2012) em seus estudos com suco de uva Isabel tratados com ultrassom relataram que na avaliação sensorial houve maior aprovação das amostras submetidas ao ultrassom. A média das notas das amostras sonicadas foi significativamente superior ao alcançado pelo controle.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram avaliados os efeitos da intensidade de potência do ultrassom e tempo de processamento na atividade residual da PPO, conteúdo de compostos fenólicos, conteúdo de ácido ascórbico, variação de temperatura e de cor. Os modelos de regressão desenvolvidos para estimativa desses parâmetros foram preditivos, exceto para a resposta teor de fenólicos totais. O coeficiente de determinação (R^2) para os modelos obtidos apresentaram boa correlação com os dados experimentais a um nível de confiança de 95%.

O ultrassom influenciou significativamente parâmetros de qualidade do suco de graviola. Apesar do ultrassom não ter sido capaz de inativar totalmente a PPO, o tratamento térmico na temperatura mais alta alcançada devido à sonicação não apresentou nenhum efeito sobre a inativação da enzima, sugerindo que o ultrassom é uma boa opção como tratamento não térmico para suco de graviola. As mudanças de cor observadas durante a sonicação foram sutis, o conteúdo de ácido ascórbico foi maior na maioria das amostras tratadas e uma boa retenção dos compostos fenólicos foi obtida em maior intensidade de potência.

A Metodologia da Superfície de Resposta pode ser utilizada para otimizar as condições de processo, que foram intensidade de potência de 330 W/cm^2 e tempo de processamento de 9 min.

A amostra submetida ao ultrassom apresentou notas de aceitação superiores a amostra controle em relação aos atributos aparência e textura. Houve diferença significativa entre as amostras apenas em relação ao atributo textura e a amostra sonicada apresentou atitude de compra positiva.

REFERÊNCIAS

- AADIL, R. M.; ZENG, X.; HAN, Z.; SUN, D. Effects of ultrasound treatments on quality of grapefruit juice. **Food Chemistry**, 141, 3201–3206, 2013.
- APFEL, R.E. Ultrasonics. In P.D. Edmonds (Ed.), *Methods of experimental physics*. **New York: Academic Press**, p.356-411, 1981.
- ARANHA, F. Q.; BARROS, Z. F.; MOURA, L. S. A.; GONÇALVES, M. C. R.; BARROS, J. C.; METRI, J. C.; SOUZA, M. S. O papel da vitamina C sobre as alterações orgânicas do idoso. **Revista de Nutrição**. 13. p. 89-97, 2000.
- ARAÚJO FILHO, G. C.; ANDRADE, O. M. S.; CASTRO, F. A.; SÁ, F. T. **Instruções técnicas para o cultivo da graviola**. Embrapa Agroindústria tropical. N° 02. p.01-10. Dez./1998
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of Analysis of the Association of official Analytical Chemists**. 15th ed., v. 2. Arlington: A.O.A.C., p. 1058-1059 (method 967/21), 1990.
- BHAT, RAJEEV.; KARAMUDDIN, N. S. B. C.; MIN-TZE, L.; KARIM, A. A. Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. **Ultrasonics Sonochemistry**, 18, 1295–1300, 2011.
- BLUM, M. Designing foods for better health. **International Foods Ingredients**, v.3, p.25-29, 1996.
- BARROS NETO, B. de; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E. Planejamento e otimização de experimentos. **Campinas, Editora da UNICAMP**, p. 299, 2001.
- BATISTA, M.M.F., VIEGAS, I.J.M., FRAZÃO, D.A.C. Efeito da omissão de macronutrientes no crescimento, nos sintomas de deficiências nutricionais e na composição mineral em graviola (*Annona muricata* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, 25, n.2, p.315-318, 2004.
- BONOMO, R. C. F.; CARNEIRO, J. C. S.; BATISTA, S. A.; PIRAJÁ, D. C. R.; FONTAN, R. C. I.; CARVALHO, B. M. A.; COSTA, A. M. G.; SILVA, A. A. L. Desenvolvimento e avaliação sensorial de um “mix” de polpa congelada à base de cajá (*Spondias mombim* L.) e graviola (*Annona muricata* L.). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.8, n.1, p.11-15, 2006.
- BRAGA SOBRINHO, R. Potencial de exploração de anonáceas no Nordeste do Brasil. In: SEMANA DA FRUTICULTURA, FLORICULTURA E AGROINDÚSTRIA, 17, 2010, Fortaleza. **Anais Semana da Fruticultura, Floricultura e Agroindústria** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2010.
- BRASIL. Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996. **Conselho Nacional de Saúde**. 1996. Disponível em: <http://www.conselho.saude.gov.br/docs/Reso196.doc> Acessado em 20 de setembro de 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.1, de 07 de janeiro de 2000. **Regulamento Técnico Geral para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de fruta**. Diário Oficial da União, Brasília, 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos**. RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.12, de 4 de setembro de 2003. **Regulamento Técnico para fixação de padrões de identidade e qualidade dos sucos tropicais e néctares**. Diário Oficial da União, Brasília, 2003.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Revista de Nutrição**, v.56, n.11, p.317-333, 1998.

BUTZ, P.; TAUSCHER, B. Emerging technologies: chemical aspects. **Food Research International**, n.35, p.279-284, 2002.

CALDAS, Z. T. C.; ARAÚJO, F. M. M. C.; MACHADO, A. V.; ALMEIDA, A. K. L.; ALVES, F. M. S. Investigação de qualidade das polpas de frutas congeladas comercializadas nos estados da Paraíba e Rio Grande do Norte. **Revista Verde de Agroindústria e Desenvolvimento Sustentável**. v.5, n.4, p. 156 -163, 2010

CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BENASSI, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, Dezembro 2010.

CÁRCEL, J. A.; GARCÍA-PÉREZ, J. V.; BENEDITO, J.; MULET, A. Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 2, p. 200-207, 2012.

CHENG, L. H., SOH, C. Y., LIEW, S. C., & TEH, F. F. Effects of sonication and carbonation on guava juice quality. **Food Chemistry**, 104, 1396–1401, 2007.

COMARELLA, C. G.; SAUTTER, C. K.; EBERT, L. C.; PENNA, N. G. Polifenóis totais e avaliação sensorial de suco de uvas Isabel tratadas com ultrassom. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.4, p.69-73, 2012.

COSTA, M. G. M.; FONTELES, T. V.; JESUS, A. L. T.; ALMEIDA, F. D. L.; MIRANDA, M. R. A.; FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. High-intensity ultrasound processing of pineapple juice. **Food and Bioprocess Technology** 6:997–1006, 2013.

CRUZ, R.M.S.; VIEIRA, M.S.; SILVA, C.L.M. Effect of heat and thermosonication treatments on watercress (*Nasturtium officinale*) vitamin C degradation kinetics. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 9, p.483-488, 2008.

DUBROVIC, I.; HERCEG, Z.; JAMBRAK, A. R.; BADANJAK, M.; DRAGOVIC-UZELAC, V. Effect of high intensity ultrasound and pasteurization on anthocyanin content in strawberry juice. **Food Technology and Biotechnology** 49 (2) 196-204, 2011.

FILGUEIRAS, H.A.C., RAMOS, V.H.V., ALVES, R.E. Característica da fruta para exportação. In: ALVES, R.E., FILGUEIRAS, H.A.C., RAMOS, V.H.V. **Graviola: pós-colheita**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica (Frutas do Brasil, 24). p.9-10, 2002.

FONTELES, T.V.; COSTA, M.G.M.; JESUS, A.L.T.; MIRANDA, M.R.A.; FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. Power ultrasound processing of cantaloupe melon juice: effects on quality parameters. **Food Research International**, v. 48, p.41-48, 2012.

FRANCIS, F. J. **Wiley encyclopedia of food science and technology**, 2. ed., EUA: John Wiley & Sons, 1999

GIADA, M.L.R.; MANCINI FILHO, J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. Publicatio UEPG **Ciências Biológicas e da Saúde**, v.12, n.4, p.7-15, 2006.

GOMES, M. R. A.; OLIVEIRA, M. G. A.; CARNEIRO, G. E. S.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Propriedades físico-químicas de polifenoloxidase de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 21(1): 69-72, jan.-abr. 2001.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M., ORSOLANI, L., MARTÍNEZ-YÉPEZ, A., & TAPIA, M. S. Microbiological and sensory quality of sonicated calcium-added orange juice. **LWT-Food Science and Technology**, 43, 808–813, 2010.

HAYASHI, R. Use of high pressure in bioscience and in biotechnology. In R. Hayashi, & C. Balney (Eds.), *High pressure bioscience and biotechnology* (pp. 1–7). Amsterdam: **Elsevier Applied Science**, 1996.

IBGE – Pesquisa de orçamentos familiares 2008 – 2009: Aquisição alimentar domiciliar per capita – Brasil e grandes regiões. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Rio de Janeiro, 2010.

IBRAF. Produção Brasileira de Frutas 2009. **Instituto Brasileiro de Frutas**. Disponível em: http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est_frutas.asp. Acessado em: 15 de setembro de 2013.

JANG, J. H., & MOON, K. D. Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. **Food Chemistry**, 124, 444–449, 2011.

KLIMCZACK, I.; MALECKA, M.; SZLACHTA, M.; GLISZCZYŃSKA-SWIGŁO, A. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant

activity of orange juices. **Journal of Food Composition and Analysis**. 20, p. 313-322, 2007.

LEAL, R. C.; REIS, V. B., LUZ, D. A. Avaliação de parâmetros físico-químico de polpas congeladas de graviola comercializada em supermercados de São Luís – MA. **Caderno de Pesquisa**., São Luís, v. 20, n. 2, maio/ago. 2013.

LI, H. Z., PORDESIMO, L., & WEISS, J. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. **Food Research International**, 37, 731–738, 2004.

LIMA, M. A. C.; ALEVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ENÉAS-FILHO, J. Comportamento respiratório e qualidade pós-colheita de graviola (*Annona muricata* L.) “morada” sob temperatura ambiente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 25, n. 1, p. 49-52, Abril 2003.

LIMA, M. D. Perfil cromatográfico dos extratos brutos das sementes de *Annona muricata* L. e *Annona squamosa* L. através da cromatografia líquida de alta eficiência. Dissertação de Mestrado – Maceió – AL, **Universidade Federal de Alagoas**, 102 páginas, 2007.

LIMA, E. C. S.; DAER, J. C.; WILHELMI, L. S.; CARDOSO, M. H.; TEIXIERA, A. B. S. Efeito da pasteurização sobre propriedades químicas, microbiológicas e sensoriais de bebida mista formulada com inhame (*Diospora* sp) e limão tahiti (*Citrus latifolia* tanaka). **Acta tecnológica**, Vol. 7, nº2, p.44-48, 2012.

LIZANA, L.A., G. REGINATO. Cherimoya. p. 131-148. In: S. Nagy, P.R. Shaw, and W.F. Wardowski (ed.) Fruits of Tropical and Subtropical Origin: Composition, Properties and Uses. **Florida Science Source**, Lake Alfred, Florida, 1990.

LUNA, J. S.; CARVALHO, J. M.; LIMA, M. R. F.; BIEBER, L. W.; BENTO, E. S.; FRANCK, X.; SANT’ANA, A. E. G. Acetogenins in *Annona muricata* L. (annonaceae) leaves are potent molluscicides. **Natural Product Research**, 20 (3): 253-257, 2006..

MAIA, G. A.; SOUZA, P. H. M.; LIMA, A. S. Processamento de sucos de frutas tropicais. Fortaleza: **Edições UFC**, P.320, 2007. (a)

MAIA, G. A.; SOUZA, P. H. M.; SANTOS, G. M.; SILVA, D. S.; FERNANDES, A. G.; PRADO, G. M. Efeito do processamento sobre componentes do suco de acerola. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, 27 (1): 130-134, jan-mar. 2007.(b)

MARCHESE, D. Citrus consumers trend in Europe. New tastes sensation: The blood orange juice case. In: **Citrus Processing Short Course Proceedings**, University of Florida, Gainesville, FL, p. 19-39, 1995.

MASON, T. J. Practical sonochemistry user’s guide to application in chemistry and chemical engineering, **New York**: Ellis Horwood, 1991.

MAWSON, R., GAMAGE, M., TEREFE, M. S., & KNOERZER, K. Ultrasound in enzyme activation and inactivation. In H. Feng, G. V. Barbosa-C_arnovas, & J. Weiss

(Eds.), **Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing** (pp. 369e404). USA: Springer, 2011.

MIKKELSEN, B. B.; POLL, L. Decomposition and transformation of aroma compounds and anthocyanins during black currant (*Ribes nigrum* L.) juice processing. **Journal Food Science**. v. 67, n. 9, p. 3447-55, 2002.

MURATA, M.; TSURUTANI, M.; TOMITA, M.; HOMMA, S.; KANEKO, K. Relationship between apple ripening and browning: changes in polyphenol content and polyphenol oxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v.43, n.5, p.1115-1121, 1995.

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

NICOLI, M.C.; ANESE, M.; PARPINEL, M. Influence of processing on the antioxidants properties of fruit and vegetables. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, p.94-100, 1999.

NOBRE, R.G.; FERNANDES, P.D.; RAJ GHEYI, H. Germinação e formação de mudas enxertadas de gravioleira sob estresse salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, n.12, p.1365-1371, 2003.

O'DONNELL, C. P., TIWARI, B. K., BOURKE, P., & CULLEN, P. J. Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. **Trends in Food Science & Technology**, 21, p.358–367, 2010.

OMS-OLIU, G.; ODRIUZOLA-SERRANO, I.; SOLIVA-FORTUNY, R; MARTÍN-BELLOSO, O. The role of peroxidase on the antioxidant potential of fresh-cut 'Piel de Sapo' melon packaged under different modified atmosphere. **Food Chemistry**, v.106, p.1085-1092, 2008.

PELEG, H.; BODINE, K.K.; NOBLE, A.C. The influence of acid on adstringency of alum and phenolic compounds. **Chemical Senses**, v.23, n.3, p.371-378, 1998.

PEREIRA, R.N.; VICENTE, A.A. Environmental impact of novel thermal and non-thermal Technologies in food processing. **Food Research International**, v.43, p.1936-1943, 2010.

PINTO, A. C. DE Q.; RAMOS, V. H. V.; RODRIGUES, A. A. Aspectos botânicos. In: OLIVEIRA, M. A. S. (Ed.). **Graviola produção: aspectos técnicos**. Planaltina – DF: Embrapa/ Informação Tecnológica (Frutas do Brasil; 15), p. 78, 2001.

PINTO, A. C. Q.; SILVA, E. M. **Graviola para exportação: aspectos técnicos da produção**. (Série Publicações Técnicas FRUPEX; 7).P.41. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1995.

POLL, H.; KIST, B. B.; SANTOS, C. E.; REETZ, E. R.; CARVALHO, C.; SILVEIRA, D. N. **Anuário Brasileiro de Fruticultura 2013**. Santa Cruz do Sul – Gazeta Santa Cruz, 136, 2013.

PORTE, A., MAIA, L. H. Alterações fisiológicas, bioquímicas e microbiológicas de alimentos minimamente processados. **Boletim CEPPA - Centro de Pesquisa e Planejamento Ambiental**, Curitiba, v. 19, n. 1, p. 105-118, jan./jun. 2001.

RAWSON, A., TIWARI, B. K., PATRAS, A., BRUNTON, N., BRENNAN, C., CULLEN, P. J., *et al.* Effect of thermosonication on bioactive compounds in water-melon juice. **Food Research International**, 44, 1168–1173, 2011. (a)

RAWSON, A., PATRAS, A., TIWARI, B. K., NOCI, F., KOUTCHMA, T.; BRUNTON, N. B. K. Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. **Food Research International**, 44, p. 1875–1887, 2011. (b)

ROCHA A. M. C. N., & MORAIS, A. M. M. B. Characterization of polyphenoloxidase (PPO) extracted from 'Jonagored' apple. **Food Control**, 12, 85–90, 2001.

RODRIGUES, M.G.V. Produção e mercado de frutas desidratadas. Portal TODAFRUTA. 2004. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=6687>. Acesso em: 02 de março de 2013.

ROSENTHAL, A., MATTA, V.M., CABRAL, L.C., FURTADO, A.A.L. Polpa e suco de frutas: processo de produção. In: Iniciando um pequeno grande negócio agroindustrial: polpa e suco de frutas/Embrapa Agroindústria de Alimentos, Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, p.123, 2003.

SACRAMENTO, C. K., FARIA, J. C., CRUZ, F. L., BARRETTO, W. S., GASPAR, J. W., LEITE, J. B. V. Caracterização física e química de frutos de três tipos de gravioleira (*Annona muricata* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 25, n. 2, p. 329-331, 2003.

SALA, F. J., BURGOS, J., CONDÓN, S., LOPEZ, P., & RASO, J. Effect of heat and ultrasound on microorganisms and enzymes. In G. W. Gould (Ed.), **New methods of food preservation** (pp. 177–204). London: Blackie Academic & Professional, 1995.

SALGADO, M. S.; GUERRA, N. B.; MELO FILHO, A. B. Polpa de fruta congelada: Efeito do processamento sobre o conteúdo de fibra alimentar. **Revista de Nutrição**, Campinas, 12(3): 303-308, set./dez., 1999.

SILVA, E.M. Mecanismos bioquímicos de fisiopatias importantes de frutas. In: CONGRESO IBEROAMERICANO DE TECNOLOGIA POSTCOSECHA Y AGROEXPORTACIONES, 2., 2000, Bogotá. **Memorias...**Bogotá: Universidad Nacional de Colombia, p. 5-19, 2000.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, Orlando, v. 299, p. 152–178, 1999.

STROHECKER, R.; HENNING, H. M.. **Análisis de vitaminas: métodos comprobados**. Madrid: Paz Montalvo, p. 428, 1967.

SUN, Y., Ma, G., YE, X., KAKUDA, Y., & MENG, R. Stability of all-trans- β -carotene under ultrasound treatment in a model system: Effects of different factors, kinetics and newly formed compounds. **Ultrasonics Sonochemistry**, 17, 654–661, 2010.

TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. NEPA – UNICAMP – versão II – 2ed – Campinas, SP : **NEPA-UNICAMP**, 2006.

TEREFE, N. S., GAMAGE, M., VILKHU, K., SIMONS, L., MAWSON, R., & VERSTEEG, C. The kinetics of inactivation of pectin methylesterase and polygalacturonase in tomato juice by thermosonication. **Food Chemistry**, 117, 20-27, 2009.

TIAN, Z. M., WAN, M. X., WANG, S. P., & KANG, J. Q. Effects of ultrasound and additives on the function and structure of trypsin. **Ultrasonics Sonochemistry**, 11, 399 e 404, 2004.

TIWARI, B.K.; O'DONNELL, C.; CULLEN, P.J. Color degradation and quality parameters of sonicated orange juice using response surface methodology. **LWT Food Science and Technology**, v.41, p.1876-1883, 2008.

TIWARI, B.K.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; O'DONNELL, C.; CULLEN, P.J. Effect of sonication on the retention of anthocyanins in blackberry juice. **Journal of Food Engineering**, v.93, n.2, p.166-171, 2009.

UENOJO, M., PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, Vol. 30, No. 2, 388-394, 2007

UMME, A.; BAMBANG, S. S.; SALMAH, Y.; JAMILAH, B. Effect of pasteurization on sensoriy quality of natural soursop puree under different storage conditions. **Food Chemistry**. 75, 293-301, 2001.

USDA- (National Nutrient Database for Standard). Release 18 (2006). Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2013.

VALERO, M.; RECROSIO, N., SAURA, D.; MUNOZ, N.; MARTIC, N.; LIZAMA, V. Effect of ultrasonic treatments on orange juice processing. **Journal of Food Engineering**, v.80, n.2, p.509-516, 2007.

VENDRAMINI, A.L.; TRUGO, L.C. Phenolic compounds in acerola fruit (*Malpighia puniciflora* L.) **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.15, n. 5, p.664-668, 2004.

VIEIRA, M. C.; TEIXIERA, A. A.; SILVA, C. L. M. Mathematical modeling of the thermal degradation kinetics of vitamin C in cupuacçu (*Theobroma grandiflorum*) néctar. **Journal of Food Engineering**, 43, 1 – 7, 2000.

VILAS BOAS, E. V. B. Qualidade de alimentos vegetais. Lavras: UFLA/FAEPE, P. 59, 2002.

VILAS BOAS, E. V. B.; ROSA, C. I. L.F.; SILVA, M. V. Conceitos e métodos de controle do escurecimento enzimático no processamento mínimo de frutas e hortaliças. **Boletim CEPPA - Centro de Pesquisa e Planejamento Ambiental**, Curitiba v. 27, n.1, p.83-96, 2009.

WAN, J., MAWSON, R., ASHOKKUMAR, M., RONACHER, K., COVENTRY, M. J., ROGINSKI, H., *et al.* Emerging processing technologies for functional foods. **Australian Journal of Dairy Technology**, 60, 167–169, 2005.

WHITAKER, J. R. **Principles of enzymology for the food science**. EUA: Marcel Dekker, 1994.

WISSERMANN, K. W.; LEE, C. Y. Polyphenoloxidase activity during grape maturation and wine production. **American Journal of Enology and Viticulture**. 31, p. 206-211, 1980.

WONG, E.; VAILLANT, F.; PÉREA, A. Osmosonication of blackberry juice: impact on selected pathogens, spoilage microorganisms, and main quality parameters. **Journal of Food Science**, 75, p. 468-474, 2010.

YAHIA, E. M. The Contribution of Fruit and Vegetable Consumption to Human Health. In L. A. Rosa, E. Alvarez-Parrilla, & G. A. Gonzalez-Aguilera (Eds.), *Fruit and vegetable phytochemicals chemistry nutritional value and stability*. **Wiley- Blackwell: Hoboken**, 2010.

YEMENIICIOGLU, A., & CEMEROGLU, B. Consistency of polyphenol oxidase (PPO) thermostability in ripening apricots (*Prunus armeniaca* L.): evidence for the presence of thermostable PPO forming and destabilizing mechanisms in apricots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, 2371–2379, 2003.

YORUK, R.; MARSHALL, M. Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. **Journal of Food Biochemistry**. 27, p.361-422, 2003.

ZERAIK, A. E.; SOUZA, F. S.; FATIBELLO-FILHO, O. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Química Nova**. Vol. 31, n.4, p. 731-734, 2008.

ANEXOS

ANEXO 1: Ficha de Análise Sensorial

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

ANÁLISE SENSORIAL

Nome: _____ Idade: _____
 Data: ____/____/____

- 1 Por favor, prove as amostras codificadas de suco de graviola da esquerda para a direita e indique, através da escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra em relação aos atributos de **aparência**, **aroma**, **sabor** e **textura**.

9 – Gostei extremamente

8 – Gostei muito

7– Gostei moderadamente

6– Gostei ligeiramente

5– Não gostei, nem desgostei

4– Desgostei ligeiramente

3 – Desgostei moderadamente

2 – Desgostei muito

1 – Desgostei extremamente

Amostra	Notas			
	Aparência	Aroma	Sabor	Textura

2. Utilizando a escala abaixo, verifique, por favor, qual seria sua atitude de compra frente a cada uma das amostras que você avaliou.

5– Certamente compraria

4– Provavelmente compraria

3 – Tenho dúvidas se compraria

2 – Provavelmente não compraria

1 – Certamente não compraria

Amostra	Nota

Comentários:

Obrigada!

ANEXO 2: Ficha de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convido o (a) Sr.(a) para participar, como voluntário (a), da pesquisa “Efeito do ultrassom em parâmetros de qualidade do suco de graviola”, que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador (a) Daniely da Rocha Cordeiro Dias (Rua Professor Nelson Chaves, s/n – Cidade Universitária. CEP: 50.670-901. Telefone: (81) 8889-8941. E-mail: danielycordeiro@yahoo.com.br); e está sob a orientação da professora Patrícia Moreira Azoubel.

Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar a fazer parte do estudo, rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa o (a) Sr.(a) não será penalizado (a) de forma alguma.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

A graviola é um fruto tropical que apresenta sabor agradável, cuja polpa pode ser utilizada na preparação de diversos produtos, como sorvetes, néctares e sucos. A fruta é altamente perecível e necessita da utilização de tecnologias capazes de permitirem a sua conservação por um maior período, permitindo, assim, sua comercialização aos mercados distantes. Ainda, o fruto é susceptível ao escurecimento enzimático, reação catalisada pelas polifenoloxidasas (PPO), que interfere desfavoravelmente na cor desses produtos, consistindo em um grande problema para a sua industrialização. Dentre as enzimas presentes nos alimentos, a PPO é frequentemente envolvida em mudanças deteriorativas, tornando-se um sério problema, afetando não apenas as propriedades sensoriais e, consequentemente, a comercialização do produto, como também seu valor nutricional. Essas enzimas são geralmente inativadas por meio de tratamentos térmicos. Entretanto, esses tratamentos demandam alta quantidade de energia e afetam a qualidade do produto. A graviola e seus produtos são sensíveis a tratamentos que utilizam alta temperatura, como na esterilização térmica. O tratamento térmico do suco de graviola pode resultar em perdas de cor, vitaminas, degradação de compostos aromáticos, entre outros. A introdução de novas tecnologias pode reduzir o tempo de processamento e melhorar as condições de operação industrial, resultando em produtos com alta qualidade, que preserve suas características iniciais. O ultrassom pode ser uma tecnologia não térmica efetiva na inativação de microrganismos e enzimas relacionadas à degradação de sucos de fruta. Esta pesquisa refere ao uso de ultrassom em suco de graviola como alternativa aos métodos tradicionais como esterilização e pasteurização. O trabalho tem como objetivo estudar a aplicação do ultrassom em suco de graviola, de forma a verificar as melhores condições de processamento e avaliar os efeitos de seu uso nos parâmetros de qualidade do suco de graviola. Para isso desejamos definir uma condição de processamento (intensidade e tempo de aplicação) para tratamento de suco de graviola em ultrassom; avaliar a influência do ultrassom na cor, na atividade enzimática (PPO), na concentração de fenólicos e de ácido ascórbico de suco de

graviola e avaliar a influência do ultrassom na aceitação por parte dos consumidores do suco de graviola.

As informações aqui prestadas estarão sob sigilo e ao sujeito é garantido o direito de retirar o consentimento a qualquer tempo.

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: **(Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).**

Pesquisador: Daniely da Rocha Cordeiro Dias

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu, _____,

RG: _____ e CPF: _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo “Efeito do ultrassom em parâmetros de qualidade do suco de graviola”, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido(a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Nome do participante: _____

Local e data _____

Assinatura do participante ou responsável

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

02 testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Testemunha 1 - Nome: _____
Assinatura: _____

Testemunha 2 - Nome: _____
Assinatura: _____