



Carolina Pereira Rodrigues

Licenciada em Bioquímica

Contributo para o estudo da estabilidade da cor em sumos de ananás

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Tecnologia e Segurança Alimentar

Orientador: Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando,
Professora Auxiliar, Faculdade de Ciências e Tecnologia da
Universidade Nova de Lisboa

Coorientador: Dra. Maria João Alegria, Gestora de
Investigação Aplicada, SUMOL+COMPAL

Júri:

Presidente: Prof. Benilde Simões Mendes, Professora Associada com Agregação
da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Arguente: Mestre Victor Gomes Lauriano de Souza, Estudante de Doutoramento
da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Vogal: Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando, Professora Auxiliar da
Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro 2017

Carolina Pereira Rodrigues

Licenciada em Bioquímica

**Contributo para o estudo da
estabilidade da cor em sumos de
ananás**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Tecnologia e Segurança Alimentar

Orientador: Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz
Fernando, Professora Auxiliar, Faculdade de Ciências e
Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Coorientadora: Dra. Maria João Alegria, Gestora de
Investigação Aplicada, SUMOL+COMPAL

Setembro 2017

“Contributo para o estudo da estabilidade da cor em sumos de ananás” © Carolina Pereira Rodrigues, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço à Professora Doutora Ana Luísa Fernando, por me ter orientado ao longo desta dissertação, tal como no projeto enquanto aluna licenciatura de Bioquímica, altura em que pude ter contato com esta área e me motivou a seguir este mestrado. Agradeço por toda a disponibilidade, paciência e confiança ao longo desta fase.

À Professora Doutora Benilde Mendes, coordenadora do Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar, pela possibilidade de realização não só desta dissertação como também de toda a preocupação ao longo do mestrado.

À Sumol-Compal, na pessoa Dra Maria João Alegria, pelo fornecimento da matéria-prima necessária a todo este trabalho, bem como pelo apoio na redação do documento escrito com os seus comentários valiosos que contribuíram para a melhoria do mesmo.

Ao Vítor Souza, por toda a disponibilidade, ensinamentos e ajuda em todas as fases do trabalho.

À D. Rita Braga e D. Rosa Pinto, por toda a disponibilidade, paciência e amabilidade com que sempre me trataram.

A todos os Professores do DCTB, pelo conhecimento transmitido e por toda a disponibilidade ao longo de todo o mestrado.

A todos os amigos que este percurso académico me trouxe, e em especial nesta fase, ao João, Miguel e Hélio, por contribuírem não só para um espírito de trabalho animado em laboratório como por todos os momentos de descontração, aflição e incentivo partilhados.

À Catarina, por me acompanhar desde o primeiro dia do meu percurso académico e à Noe por manter sempre a animação.

Por último, agradeço aos meus pais, por desde sempre me apoiarem, por acreditarem em mim e me incentivarem a nunca desistir de qualquer obstáculo, por todo o amor e carinho sempre demonstrado e por fazerem sempre de tudo para que nada me faltasse.

PARTES DO PRESENTE TRABALHO FORAM JÁ PUBLICADAS:

RESUMOS EM ATAS DE CONFERÊNCIAS NACIONAIS:

Rodrigues CP, Fernando AL (2017) Influência do processamento e do armazenamento na estabilidade da polpa de ananás. In: Sanches-Silva A, Vilarinho F, Santos M, Andrade M (ed) Livro de Resumos do 4º Simpósio Nacional Promoção de uma Alimentação Saudável e Segura, do Nutriente à Embalagem – Inovação e Desafios, SPASS 2017, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal, 21 Setembro 2017, p. 83.

RESUMO

A indústria dos sumos e refrigerantes enfrenta, todos os dias, diversos desafios no sentido de melhoramento dos seus produtos, com o fim de garantir o seu tempo de vida útil por mais tempo, mantendo as suas características o mais perto do natural com o menor processamento possível. Os sumos de ananás não são exceção pois processos de degradação associados ao seu processamento e armazenamento podem contribuir para a sua degradação. As alterações de cor destes sumos pode ocorrer por via enzimática, nomeadamente através de enzimas que oxidam os compostos fenólicos e por via não enzimática, derivada de reações de Maillard ou degradação oxidativa. O recurso a antioxidantes, de forma a preservar os sumos, constitui uma alternativa na tentativa de manter o valor nutricional e a estabilidade do produto por mais tempo.

Neste trabalho, foram realizados diversos ensaios em concentrado de ananás, ou em sumo de ananás, com o objectivo fornecer um contributo para o estudo da estabilidade da cor nesta matriz.

Num primeiro estudo, avaliou-se a estabilidade, em termos de cor, mas também em termos de outras características físico-químicas, do concentrado de ananás ao longo de quatro semanas em condições de refrigeração (4°C). Pretendeu-se, desta forma, avaliar se o concentrado mantém as suas características nutricionais e organoléticas durante o armazenamento a frio. Os resultados obtidos, na análise de lotes diferentes de concentrado de ananás, mostram que não houve alterações significativas nas características nutricionais e organolépticas ao longo deste tempo de armazenamento (quatro semanas). As alterações observadas prendem-se com a oxidação do ácido ascórbico existente nos sumos, o que contribuiu para a redução da atividade antioxidante dos concentrados com o tempo de armazenamento.

O estudo da aplicação de diferentes binómios tempo/temperatura em sumos realizados a partir dos concentrados, permitiu avaliar o efeito destes tratamentos a nível de pH, acidez titulável, cor, sólidos solúveis totais, ácido ascórbico, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. Este revelou que o tratamento que promove uma menor degradação de ácido ascórbico foi o tratamento a 75°C/ 5 minutos, tornando-se o tratamento a utilizar na seguinte e última fase do trabalho, sendo também aquele em que menor energia é requerida.

Sumos de ananás com adição de filmes de quitosano incorporados com ácido ascórbico em duas concentrações distintas (1,5% e 3%) foram também estudados ao longo de 28 dias, em condições de armazenamento que mimetizam uma degradação mais acelerada (37°C). Os sumos aos quais foi adicionado filme de quitosano com 3% de ácido ascórbico, demonstraram um escurecimento mais acentuado que os restantes sumos em estudo, sendo tratados termicamente ou não. Este elevado escurecimento é correlacionável com a redução da atividade antioxidante, e dos teores em ácido ascórbico e compostos fenólicos, mais acentuada nos sumos com adição de filme de quitosano contendo 3% em ácido ascórbico.

Em todos os concentrados e sumos analisados, a atividade da enzima polifenoloxidase não foi detetada, revelando a sua inatividade e impossibilitando de ser motivo de contribuição para a alteração da cor dos sumos.

TERMOS CHAVE: SUMO DE ANANÁS, ESCURECIMENTO, QUITOSANO, ÁCIDO ASCÓRBICO, COR

ABSTRACT

The juice and soft drinks industry faces a daily challenge to improve its products, in order to guarantee its longer shelf life, keeping its characteristics as close to natural as possible with the least processing possible. Pineapple juice is not an exception because degradation processes associated with its processing and storage can contribute to its degradation. The color changes of these juices can occur enzymatically, through enzymes that oxidize phenolic compounds and non-enzymatically, derived from Maillard reactions or oxidative degradation. The use of antioxidants, in order to preserve juices, is an alternative in an attempt to maintain the nutritional value and stability of the product for a longer period.

In this work, several trials were carried out on pineapple concentrate or pineapple juice, with the aim of providing a contribution to the study of color stability in this matrix.

In a first study, the stability, in terms of color, but also in terms of other physico-chemical characteristics, of the pineapple concentrate over four weeks under refrigeration conditions (4°C) were evaluated. The aim of this study was to evaluate whether the concentrate maintains its nutritional and organoleptic characteristics during cold storage. The results obtained in the analysis of different pineapple concentrates showed that there were no significant changes in nutritional and organoleptic characteristics during the storage period (four weeks). The changes observed are related to the oxidation of the ascorbic acid in the juices, which contributed to the reduction of the antioxidant activity of the concentrates with the storage time.

The study of the application of different time / temperature binomials in juices made from the concentrates, allowed to evaluate the effect of these treatments in pH, titratable acidity, color, total soluble solids, ascorbic acid, total phenolic compounds and antioxidant activity. This revealed that the treatment that promotes a lower degradation of ascorbic acid was the treatment at 75°C / 5 minutes, becoming the treatment to be used in the next and last phase of the work, being also the one in which less energy is required.

Pineapple juices with addition of chitosan films incorporated with ascorbic acid in two distinct concentrations (1.5% and 3%) were also studied over 28 days under storage conditions mimicking a more rapid degradation (37 ° C). Juices to which chitosan film with 3% ascorbic acid was added showed a more pronounced browning than the remaining juices under study, being thermally treated or not. This high browning is correlated with the reduction of antioxidant activity, ascorbic acid content and phenolic compounds content, more pronounced in juices with addition of chitosan film with 3% in ascorbic acid.

In all the concentrates and juices analyzed, the activity of the polyphenoloxidase enzyme was not detected, revealing its inactivity and making it impossible to contribute to the color change in the juices.

KEY WORDS: PINEAPPLE JUICE, BROWNING, CHITOSAN, ASCORBIC ACID, COLOUR

ÍNDICE GERAL

1	Introdução.....	1
1.1	Sumo de ananás	1
1.1.1	Ananás	1
1.1.2	Produção e caracterização do Sumo de ananás	2
1.1.3	Processos de degradação principais	4
1.2	Alteração da cor em sumo de ananás.....	6
1.2.1	Escurecimento enzimático	6
1.2.2	Escurecimento não enzimático	8
1.3	Tecnologias de Processamento do Ananás e de Conservação do Sumo de Ananás .	9
1.3.1	Aplicação de Quitosano em Sumos de Fruta.....	12
1.4	Objetivos.....	14
2	Materiais e Métodos	17
2.1	Matéria Prima	17
2.2	Métodos de caracterização dos concentrados e sumos de ananás	17
2.2.1	Determinação do teor de peso seco	17
2.2.2	Determinação do teor em cinzas.....	17
2.2.3	Determinação do teor em Proteína Bruta.....	18
2.2.4	Determinação do Teor em Fósforo	19
2.2.5	Determinação da atividade da enzima polifenoloxidase (PPO)	20
2.2.6	Determinação do Teor em Ácido Ascórbico.....	20
2.2.7	Determinação do Teor em Sólidos Solúveis Totais (SST).....	21
2.2.8	Determinação do pH.....	21
2.2.9	Determinação da acidez titulável	21
2.2.10	Determinação da Cor	22
2.2.11	Determinação dos Compostos Fenólicos Totais.....	22
2.2.12	Determinação da Atividade Antioxidante	23
2.3	Fases de ensaio	23
2.4	Análise Estatística	25
3	Resultados e Discussão	27
3.1	Caracterização dos Concentrados	27

3.1.1	Teor de Peso Seco e Cinzas.....	27
3.1.2	Teor de Sólidos Solúveis Totais (°Brix).....	28
3.1.3	pH	29
3.1.4	Acidez Titulável	29
3.1.5	Teor em Proteína Bruta.....	30
3.1.6	Teor em Fósforo	31
3.1.7	Cor	31
3.1.8	Compostos Fenólicos Totais	32
3.1.9	Atividade Antioxidante	33
3.1.10	Teor em Ácido Ascórbico	33
3.1.11	Atividade da PPO	34
3.2	Evolução dos concentrados ao longo do Tempo	34
3.2.1	pH	34
3.2.2	Acidez Titulável	35
3.2.3	Ácido Ascórbico.....	36
3.2.4	Atividade da PPO	37
3.2.5	Cor	37
3.2.6	Compostos Fenólicos Totais	41
3.2.7	Atividade Antioxidante	42
3.3	Aplicação de diferentes pasteurizações e avaliação ao longo do tempo	44
3.3.1	pH	44
3.3.2	Acidez Titulável	45
3.3.3	Ácido Ascórbico.....	46
3.3.4	Cor	47
3.3.5	Atividade da Enzima PPO	55
3.3.6	Teor de Sólidos Solúveis Totais (°Brix).....	55
3.3.7	Compostos Fenólicos Totais	56
3.3.8	Atividade Antioxidante	57
3.4	Aplicação de Biofilmes de Quitosano com Incorporação de Ácido Ascórbico	58
3.4.1	pH	58
3.4.2	Acidez Titulável	59

3.4.3	Ácido Ascórbico	61
3.4.4	Cor	62
3.4.5	PPO	68
3.4.6	Teor de Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	70
3.4.7	Compostos Fenólicos Totais	71
3.4.8	Atividade Antioxidante	74
4	Conclusão e Perspetivas Futuras	77
5	Referências Bibliográficas	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 - Esquema representativo da reação da enzima polifenoloxidase (adaptado de Martins, 2012).....	7
Figura 3.1 - Variação do pH ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C).	35
Figura 3.2 - Variação da acidez ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C).	36
Figura 3.3 - Variação da concentração de ácido ascórbico, em mg/100 g, ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C).	37
Figura 3.4 - Variação do parâmetro de cor L*, ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C).	38
Figura 3.5 - Variação da cor (ΔE). ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C).	39
Figura 3.6 - Variação do índice de escurecimento, ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C).	40
Figura 3.7 - Variação do ângulo de Hue, ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C).	41
Figura 3.8 - Variação dos compostos fenólicos totais, em mg de ácido gálico por kg, ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C).	42
Figura 3.9 - Variação da atividade antioxidante, em mg de equivalentes de ácido ascórbico ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C).	43
Figura 3.10 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento no pH dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias.	44
Figura 3.11 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento na acidez dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias.	46
Figura 3.12 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento no conteúdo em ácido ascórbico (mg/100 g) dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias.....	47
Figura 3.13 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento no parâmetro de cor L*, dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias.....	49
Figura 3.14 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento na variação da cor (ΔE), dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias.....	51
Figura 3.15 - Efeito do tratameto térmico e duração do tratamento no índice de escurecimento, dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias.....	52
Figura 3.16 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento no Ângulo de Hue, dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias.	54
Figura 3.17 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento no teor de sólidos solúveis totais (°Brix), dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias.	55
Figura 3.18 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento no conteúdo em compostos fenólicos (mg EAG/L), dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias.	56

Figura 3.19 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento na atividade antioxidante (mg eq de ácido ascórbico/mL), dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias	57
Figura 3.20 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, na variação do pH, ao longo de 28 dias.	59
Figura 3.21 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, na variação da acidez titulável, expressa em ácido cítrico, ao longo de 28 dias.	60
Figura 3.22 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, na variação do conteúdo em ácido ascórbico, expresso em mg/100 g, ao longo de 28 dias.	62
Figura 3.23 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, na variação do parâmetro de cor L, ao longo de 28 dias.	64
Figura 3.24 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, na variação da cor (ΔE), ao longo de 28 dias.	65
Figura 3.25 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, no índice de escurecimento, ao longo de 28 dias.	67
Figura 3.26 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, no ângulo de Hue, ao longo de 28 dias.	69
Figura 3.27 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, no teor de sólidos solúveis totais, expresso em °Brix, ao longo de 28 dias.	70
Figura 3.28 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, no conteúdo em compostos fenólicos totais, expressos em mg EAG/L, ao longo de 28 dias.	73
Figura 3.29 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, na atividade antioxidante, expressa em mg de equivalentes de ácido ascórbico/mL, ao longo de 28 dias.	75

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1- Composição nutricional do ananás, parte edível de 68%. Adaptada de Tabela de Composição dos Alimentos do INSA (INSA, 2017a).	2
Tabela 1.2- Composição nutricional do sumo de frutos, ananás, 100%. Adaptada de Tabela de Composição dos Alimentos do INSA (INSA, 2017b)	3
Tabela 2.1 - Temperaturas e tempos de pasteurização	24
Tabela 3.1 - Valores médios de humidade e peso seco, expressos em percentagem, obtidos para os concentrados e desvio padrão (D.P.).....	27
Tabela 3.2 - Valores médios de cinzas, expressos em percentagem de massa húmida, obtidos para os concentrados e desvio padrão (D.P.).....	28
Tabela 3.3 - Valores médios de Sólidos Solúveis totais, expressos em °Brix, obtidos para os concentrados e desvio padrão (D.P.).....	28
Tabela 3.4 - Valores médios de pH obtidos para os concentrados e desvio padrão (D.P.).....	29
Tabela 3.5 - Valores médios de acidez titulável, expressa em %m/m de ácido cítrico, obtidos para os concentrados e respetivo desvio padrão (D.P.).....	29
Tabela 3.6 - Valores médios de proteína em matéria húmida obtidos para os concentrados e respetivo desvio padrão (D.P.).....	30
Tabela 3.7 - Valores médios de fósforo, expressos em mg de fósforo por 100 g de massa húmida, obtidos para os concentrados e respetivo desvio padrão (D.P.).	31
Tabela 3.8 - Valores médios da coordenada de cor L*, obtidos para os concentrados e respetivo desvio padrão (D.P.).....	31
Tabela 3.9 - Valores médios do Ângulo de Hue, obtidos para os concentrados e respetivo desvio padrão (D.P.).	32
Tabela 3.10 - Valores médios de compostos fenólicos totais, expressos em mg equivalentes de ácido gálico por kg, obtidos para os concentrados e respetivo desvio padrão (D.P.).	32
Tabela 3.11 - Valores médios de atividade antioxidante, expressos equivalentes de ácido ascórbico por mL, obtidos para os concentrados e respetivo desvio padrão (D.P.).	33
Tabela 3.12 - Valores médios de ácido ascórbico, expressos em mg de ácido ascórbico por 100 g, obtidos para os concentrados e respetivo desvio padrão (D.P.).	33

LISTAS DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DCPIP	2,6 – diclorofenolindofenol
DPPH	2,2 – difenil-1-picrilhidrazilo
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
HMF	Hidroximetilfurfural
HPP	High Pressure Processing
IE	Índice de escurecimento
INSA	Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
POD	Peroxidase
PPO	Polifenoloxidase
PVP	Polivinilpirrolidona
rpm	Rotações por minuto
SST	Sólidos solúveis totais
UV	Ultravioleta
ΔE	Variação de Cor

1 INTRODUÇÃO

1.1 SUMO DE ANANÁS

1.1.1 ANANÁS

O ananás, *Ananas comosus*, pertence à família *Bromeliaceae* e a sua origem provém da América do Sul (da Silva et al., 2013). Este é um dos frutos tropicais não cítricos mais apreciados mundialmente, devido a características como o seu aroma, frescura e ao balanço entre ácido e doce (Couto et al., 2011).

Anualmente, são produzidos vários milhões de toneladas de ananás a nível mundial, estimando-se que no ano de 2014 tenham sido produzidos cerca de 25,5 milhões de toneladas, sendo o maior produtor mundial nesse ano a Costa Rica, seguida do Brasil e das Filipinas (FAOSTAT, 2014).

O ananás contém, principalmente, água, hidratos de carbono, fibras, ácidos orgânicos, sendo de grande importância o seu conteúdo em vitaminas e minerais e apresentando um baixo conteúdo em proteína e gordura (da Silva et al., 2013; Hounhouigan et al., 2014). O seu elevado valor nutricional deve-se ao conteúdo em vitamina B e C bem como minerais como cálcio e fósforo (Hossain e Rahman 2011).

Segundo o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, INSA, por 100 gramas (g) de parte edível, o ananás contém uma vasta gama de vitaminas e minerais, com destaque para a vitamina A, vitaminas do complexo B e vitamina C, potássio, cálcio e magnésio, estando alguns dos valores relativos à composição nutricional representados na Tabela 1.1 (INSA, 2017a).

Na sua constituição possui também pigmentos orgânicos, embora em pequenas quantidades, que contribuem para a cor amarela característica deste fruto, como os carotenóides, com destaque para o β – caroteno (Lako et al., 2007; Yano et al., 2005).

A parte edível do ananás integra cerca de 60% do total do fruto e possui um elevado teor de humidade que ronda os 85%. O seu elevado conteúdo em água torna então o fruto alvo de uma maior suscetibilidade à deterioração físico-química e microbiológica, sendo que após a colheita, o seu metabolismo ativo vai, rapidamente, promover uma maior degradação (Hong et al., 2013; Hounhouigan et al., 2014).

O balanço entre o ácido e o doce, característico do ananás está diretamente associado a condições como a variedade utilizada, o estado de maturação e as condições de crescimento do fruto. O conteúdo em ácido cítrico sofre alterações durante o crescimento do fruto, aumentando ao longo desta fase e atingindo maiores valores durante a maturação enquanto que o conteúdo em açúcares aumenta nas fases finais de crescimento. Devido ao fato de o ácido cítrico alterar a perceção da sacarose, um elevado conteúdo neste ácido poderá alterar a perceção de doçura (Saradhulhat e Paull 2007).

Após colheita, a temperatura ótima de armazenamento do ananás é de cerca de 10 °C para evitar que a deterioração se acentue até ao destino final do fruto, no entanto muitas das

vezes o fruto é armazenado a temperaturas mais baixas (Hong et al., 2013). O ananás é consumido em todo o mundo não só como fruta fresca, mas é também incorporado em vários produtos processados como sumo, compotas, gelatinas ou produto seco (Hossain e Rahman 2011).

Tabela 1.1- Composição nutricional do ananás, parte edível de 68%. Adaptada de Tabela de Composição dos Alimentos do INSA (INSA, 2017a).

Componentes	Ananás
	Por 100 g
Água, g	87,6
Proteína, g	0,5
Gordura total, g	0,2
Total de Hidratos de Carbono disponíveis, g	9,5
Ácidos orgânicos, g	1,07
Fibra alimentar, g	1,2
Cinzas, g	0,32
Vitamina C, mg	16
Vitamina B6, mg	0,090
Niacina, mg	0,60
Riboflavina, mg	0,030
Caroteno, mg	20
Potássio (K), mg	160
Cálcio (Ca), mg	18
Magnésio (Mg), mg	13
Fósforo (P), mg	7,0

1.1.2 PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO SUMO DE ANANÁS

O ananás fresco pode ser processado em diversos produtos sendo o sumo de ananás um dos produtos mais comercializados (Hounhouigan et al., 2014). O sumo de ananás constitui então uma boa fonte de vitaminas, fenóis, ácidos orgânicos e hidratos de carbono (Zheng e Lu 2011) e é um produto bastante apreciado devido ao seu aroma, sabor e propriedades funcionais – e.g. anti-inflamatórias, antiateroescleróticas e anti-envelhecimento (Khalid et al., 2016; Rattanathanalerk et al., 2005)

Os compostos voláteis que produzem o aroma característico do ananás dependem de vários fatores, nomeadamente: a variedade do ananás, a localização da plantação, a época, o estado de amadurecimento, o desenvolvimento do fruto e as condições de armazenamento (Hounhouigan et al., 2014).

A composição do sumo de ananás varia consoante o fruto (ananás), a localização, o tipo de cultivo, e altura de colheita do ananás bem como o tempo de processamento (Khalid et al., 2016). Na sua constituição, destaca-se o seu elevado valor energético e conteúdo em hidratos de carbono, e o seu valor nutricional devido à presença de sais minerais e vitaminas (Couto et al., 2011). Segundo o INSA, o sumo de ananás, 100%, possui genericamente por 100 g de produto, 89,1 g de água, 0,2 g de proteína, 9,5 g de hidratos de carbono entre outros como é descrito na Tabela 1.2 (INSA, 2017b). No entanto, este produto, tal como o fruto, apresenta um baixo conteúdo em proteína e lípidos, que representam menos de 0,5% do conteúdo total (Couto et al., 2011). O sumo de ananás é rico em vitamina C (ácido ascórbico), um antioxidante bastante eficaz, apresentando na sua constituição valores que podem ir desde 9,2 a 93,8 mg/100 mL (Cámara et al., 1995; Kabasakalis et al., 2000). Os principais aminoácidos encontrados no sumo de ananás incluem a asparagina, prolina, ácido aspártico, serina, ácido glutâmico, tirosina, valina e isoleucina (Khalid et al., 2016). De acordo com Khalid et al. (2016), os minerais maioritariamente presentes no sumo são o potássio (124–130 mg/100 mL), magnésio (12–15,4 mg/100 mL), fósforo (3,1–8,0 mg/100 mL), ferro (0,2–0,31 mg/100 mL), e manganês (0,3–0,99 mg/100 mL) (Khalid et al., 2016).

Os principais açúcares presentes no sumo de ananás são a sacarose (4,1 g/ 100 mL), seguida da frutose (2,5 g/ 100 mL) e glucose (2,3 g/ 100 mL) (Cámara et al., 1996).

Tabela 1.2- Composição nutricional do sumo de frutos, ananás, 100%. Adaptada de Tabela de Composição dos Alimentos do INSA (INSA, 2017b)

Componentes	Sumo de frutos, ananás, 100%
	Por 100 g
Água, g	89,1
Proteína, g	0,2
Gordura total, g	0,1
Cinza, g	0,22
Total de Hidratos de Carbono disponíveis, g	9,5
Ácidos orgânicos, g	0,60
Fibra alimentar, g	0,3
Vitamina C, mg	20
Vitamina B6, mg	0,070
Niacina, mg	0,10
Riboflavina, mg	0,040
Caroteno, mg	0
Potássio (K), mg	100
Cálcio (Ca), mg	11
Magnésio (Mg), mg	9,0
Fósforo (P), mg	5,0

A maioria da atividade antioxidante é atribuída aos compostos fenólicos presentes no sumo de ananás, sendo que o sumo de ananás contém também ácido ascórbico na forma de ácido L-ascórbico e ácido desidroascórbico.

O sumo de ananás pode ser obtido a partir de uma máquina de extração e, adicionalmente, pode-se recorrer ao uso de enzimas para aumentar o rendimento do sumo a partir da polpa (Hounhouigan et al., 2014). O sumo de ananás pode ser obtido também a partir da polpa proveniente da casca e pedaços que são descartados da linha de produção de ananás enlatado. Através de prensagem e moagem, estes são espremidos originando um sumo *single strength* (Elss et al., 2005; Sinha et al., 2012). Este sumo tem esta denominação, tendo que possuir 12,5% de sólidos solúveis totais, pH de 3,6, 0,54% de acidez titulável e 5,6% de sólido insolúvel suspenso (Goh et al., 2012). Outra forma de obtenção do sumo de ananás é por concentração térmica numa primeira etapa, obtendo-se um concentrado, seguida de reposição de água para obtenção do sumo e que origina um produto com menos sabor por perda de voláteis durante a concentração (Elss et al., 2005). Cerca de 10-25% do sumo de ananás é obtido através da indústria de produção de ananás enlatado, não podendo ser utilizado para a produção de sumo *single strength* ou concentrado devido à sua elevada acidez (Sairi et al., 2004). Para utilização do sumo obtido por essa via, a acidez é então atenuada, pela adição de agentes adoçantes ou neutralizada com recurso a diferentes técnicas de processamento (Sairi et al., 2004).

Sumos de ananás ou polpas são suspensões instáveis que sedimentam muito depressa após a extração a partir do fruto, sendo que esta separação de fases é um aspeto pouco apreciado pelo consumidor (Beveridge, 2002; Silva et al., 2010). A homogeneização constitui um dos processos fundamentais após a extração de forma a garantir um produto final onde a diferença de fases não seja tão notória. Este processo mecânico consiste na subdivisão de partículas em tamanhos mais reduzidos para a formação de uma dispersão ou emulsão estável com recurso a um aparelho de alta pressão e um espaço estreito por onde o fluído passa permitindo assim quebrar as partículas de maiores dimensões (Silva et al., 2010). Após homogeneização para estabilização da sua aparência turva, o sumo é aquecido para inativação enzimática e assim estabilizar os sólidos, sendo depois centrifugado para remoção de sólidos em suspensão (Sinha et al., 2012).

1.1.3 PROCESSOS DE DEGRADAÇÃO PRINCIPAIS

O elevado conteúdo em água, torna o ananás e o sumo de ananás, suscetíveis à degradação físico-química e microbiológica. Durante o seu armazenamento, o sumo de ananás pode passar por uma série de reações de deterioração como degradação de nutrientes, deterioração microbiana, desenvolvimento de odores não desejáveis, mudanças na cor e textura, resultando na degradação da qualidade do produto (Zheng e Lu 2011). A atividade enzimática e a atividade microbiológica restringem o tempo de vida útil dos sumos de ananás

frescos, sendo a presença de microrganismos como as leveduras, a principal causa de reações como a fermentação levando a uma degradação do produto (Chia et al., 2012).

Os sumos de fruta frescos têm uma elevada carga microbiana, proveniente de microrganismos que geralmente estão presentes nas frutas durante a colheita pela exposição aos factores ambientais (ar, água ou solo) (Shamsudin et al., 2014; Tournas et al., 2006). Os microrganismos têm a capacidade de se adaptar a meios adversos que podem ser desfavoráveis ao seu desenvolvimento. A contaminação microbiológica nos sumos deve-se maioritariamente à contaminação com bactérias aeróbias ácido-tolerantes bem como leveduras e bolores, conduzindo a uma diminuição do tempo de prateleira (Chia et al., 2012; Hounhouigan et al., 2014). As leveduras possuem capacidade de crescer em condições de pH baixo, podendo estas facilmente crescer no sumo de ananás fresco, pois este possui uma acidez elevada com valores de pH inferiores a 4 (Cámara et al., 1995). A presença de alguns destes microrganismos, em sumos frescos, pode ser associada à contaminação por insetos em frutas danificadas (Hounhouigan et al., 2014). Ao haver uma contaminação por microrganismos, a ação destes vai provocar a degradação dos sumos, sendo que no caso das leveduras, leva a que estas realizem a fermentação desenvolvendo sabores e aromas desagradáveis e inviabilizando a comercialização do sumo (Chia et al., 2012). Todas estas condições levam a uma degradação na qualidade do produto, levando a uma menor aceitação por parte do consumidor e à rejeição do produto. Desta forma, a indústria dos sumos tende a desenvolver tecnologias que minimizem ou mesmo eliminem a possibilidade de contaminação e proliferação microbiana (Shamsudin et al., 2014), embora na sua aplicação possam ser afetadas outras características dos sumos (e.g. perda de vitaminas, escurecimento dos sumos).

O sumo de ananás pode ser alvo de outros mecanismos de degradação, como o caso da degradação por ação de enzimas, perda de vitamina C, reações de Maillard e degradação de pigmentos, muitas das vezes na sequência de tratamentos aplicados ao produto ou durante o seu acondicionamento e armazenamento, originando alterações na cor, sabor e odor (Chutintrasri e Noomhorm 2007; Hounhouigan et al. 2014).

O processamento do sumo de ananás é, portanto, necessário no sentido do aumento do tempo de prateleira e preservação dos seus constituintes como as vitaminas e minerais e de forma a reduzir a deterioração microbiológica (Hounhouigan et al., 2014). Porém, cada tipo de processamento tem limitações. Para assegurar a manutenção de algumas características, pode ocorrer a alteração de outras, sendo necessário balancear as vantagens e constrangimentos de cada técnica face ao tempo de prateleira pretendido, ao mercado a que o produto se destina e ao custo associado, entre outros factores.

Sendo a alteração da cor do sumo de ananás um problema enfrentado pela indústria de sumos e bebidas o próximo sub-capítulo explora com mais detalhe os mecanismos que podem conduzir a essa alteração.

1.2 ALTERAÇÃO DA COR EM SUMO DE ANANÁS

Antes do processamento, durante este ou após, o sumo de ananás pode sofrer processos de alteração da cor. As alterações da cor podem ocorrer por via enzimática. As enzimas que causam as alterações na cor são essencialmente de natureza oxidativa e exercem a sua ação sobre substratos encontrados naturalmente nas frutas (Silva 2015). A alteração da cor pode ainda surgir derivada das tecnologias de processamento utilizadas, com reações que ocorrem durante esta fase como reações de Maillard, caramelização dos açúcares e degradação oxidativa.

1.2.1 ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO

O escurecimento enzimático está relacionado com a ação de enzimas presentes naturalmente em frutos e vegetais que catalisam reações que levam à formação de compostos de cor escura. Este ocorre, principalmente, devido a danos que ocorrem nos tecidos, desde as fases de colheita, transporte ou mesmo quando expostos ao ar após serem cortados, esmagados ou fatiados para posterior processamento (Silva, 2015).

As alterações de cor relacionam-se com a ação das enzimas polifenoloxidase e peroxidase, que usam compostos fenólicos como substratos e originam alterações indesejáveis nos frutos e vegetais ou seus produtos, a nível de cor, sabor e aroma e valor nutricional (Costa, 2015; Silva, 2015; Valderrama et al., 2001).

A enzima peroxidase (POD), é uma das enzimas que podem contribuir para as alterações de cor por via enzimática, uma vez que os difenóis podem funcionar como substratos redutores desta. No entanto, a sua ação é limitada pela disponibilidade de peróxido de hidrogénio (Mdluli, 2005). A enzima peroxidase, enzima associada a reações de deterioração oxidativa, pode ter um papel determinante na deterioração de ácido ascórbico, cataliza o branqueamento dos carotenóides na ausência de ácidos gordos insaturados e participa na descoloração de antocianinas. Ao participar na degradação de ácidos gordos insaturados, pode contribuir para a produção de compostos voláteis que alteram o sabor (Brito et al., 2005). Em sumos de ananás, a atividade desta enzima demonstra atividades distintas consoante a variedade de ananás, mantendo uma atividade ótima a pH 4,5 e apresentando estabilidade numa gama de pH de 4 a 9 (Brito et al., 2005). O processamento do ananás a alta temperatura (90°C por 2 minutos), demonstra ter efeito na inativação da enzima (Brito et al., 2005).

A enzima polifenoloxidase é outra enzima que pode contribuir para o escurecimento enzimático, causando perdas nutricionais e promoção da deterioração dos frutos, sendo, por isso, a sua presença, objeto de preocupação no processamento do ananás (Martins, 2012).

A enzima polifenoloxidase (PPO), está fortemente presente nos frutos e é a principal responsável por catalisar as reações de deterioração após danos no tecido. Esta encontra-se nos cloroplastos sem qualquer contacto com os compostos fenólicos, presentes nos vacúolos (Avallone et al., 2003; Raimbault et al., 2011). Porém, quando ocorrem danos no tecido, esta entra diretamente em contacto com os compostos fenólicos e, na presença de oxigénio, inicia as reações de escurecimento (Chutintrasri e Noomhorm 2006; Rocha e Moraes 2002). Os

fatores que contribuem para o escurecimento enzimático são o pH, temperatura, quantidade de oxigénio disponível, a concentração de PPO presente e o conteúdo em compostos fenólicos (Martins, 2012). Alguns destes factores, e.g. oxigénio e pH, afetam também o escurecimento não enzimático (Costa, 2015).

A PPO é estável ao calor, mas há uma perda de cerca de 50% da sua atividade após a sua exposição durante 20 minutos a 60°C (Chutintrasri e Noomhorm 2006). O pH ótimo para a ação da PPO varia entre 4,0 a 7,0, dependendo do substrato (Zhou et al., 2003). No entanto, a enzima é tolerante a meios ácidos e só a um pH inferior a 2,5 se verifica uma descida abrupta na sua atividade para cerca dos 10% (Martins, 2012).

A enzima contém cobre no seu centro ativo e para que haja atividade enzimática este tem que estar na sua forma reduzida, Cu^+ , para que a enzima se possa ligar ao oxigénio (Bértolo, 2011; Martinez and Whitaker, 1995; Martins, 2012). Esta, vai catalizar a formação de quinonas reativas, a partir de fenóis, ocorrendo depois a polimerização (reação não enzimática) e a formação de melanoidinas, de cor castanha, que originam o escurecimento dos sumos (Figura 1.1) e provocando também alterações no sabor e consequentemente no valor de mercado (Chutintrasri e Noomhorm 2006; Tomás-Barberán e Espín 2001).

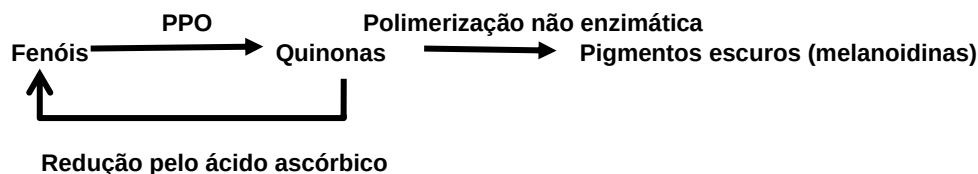


Figura 1.1 - Esquema representativo da reação da enzima polifenoloxidase (adaptado de Martins, 2012)

A adição de antioxidantes, como o ácido ascórbico, pode reverter a ação das quinonas, uma vez que consegue bloquear as reações de escurecimento numa fase inicial, levando à regeneração do composto fenólico original. Quando o antioxidante se esgota, ocorre de novo a formação das quinonas e a polimerização, que conduz ao escurecimento dos sumos, como está esquematizado na Figura 1.1 (Martins, 2012; Robards et al., 1999).

A PPO ativa é então responsável diretamente pela perda de fenóis e indiretamente pela perda de ácido ascórbico estando então a sua atividade associada a alterações sensoriais que incluem o aparecimento de aromas não naturais (Martins, 2012; Song et al., 2007).

A inativação da PPO é possível através do processamento térmico, refrigeração, alteração do pH, através da sua diminuição, adição de agentes anti-escurecimento e/ou inibidores enzimáticos (Martins, 2012). A inativação da PPO é possível através da aplicação de temperaturas acima de 50°C, sendo que temperaturas acima de 80°C são muito utilizadas em sumos de fruta para eliminação de microrganismos e inativação de enzimas oxidativas (De Oliveira et al., 2008; Martins, 2012). A desvantagem da aplicação de temperaturas mais elevadas é a possibilidade de estas levarem a alterações de cor, aromas e textura indesejáveis (De Oliveira et al., 2008).

O efeito do ácido ascórbico quando adicionado aos sumos vai ter um efeito temporário, pois uma vez que se oxide a ácido desidroascórbico, seja devido a condições enzimáticas quer por oxidação química, vai esgotar-se e o escurecimento acontecerá (Martins, 2012). O mesmo ocorre com a utilização de outros compostos antioxidantes.

1.2.2 ESCURECIMENTO NÃO ENZIMÁTICO

O escurecimento não enzimático, deriva da formação de compostos de cor escura devido a reações catalisadas não enzimaticamente, seja no tecido vegetal durante ou após o seu processamento. As tecnologias de processamento utilizadas, muitas vezes com recurso à temperatura, levam à produção de pigmentos escuros afetando assim a cor, devido a reacções de Maillard, reações de caramelização dos açúcares e oxidação do ácido ascórbico (Assawarachan e Noomhorm 2010; Silva 2015). Outros tantos fatores podem contribuir para o escurecimento não enzimático, por exemplo, a formulação, o uso de aditivos e o pH (Silva, 2015).

No sumo de ananás, a reação de Maillard é a principal reação que afeta a qualidade do sumo (Hounhouigan et al., 2014). A reação de Maillard ocorre quando se dá um ataque nucleofílico de um grupo amina de um aminoácido a um grupo carbonilo de um açúcar redutor. O produto resultante desta reação é uma glicosamina N-substituída, que após vários rearranjos estruturais origina o furfural ou hidroximetilfurfural (HMF). Estes produtos são altamente reativos e participam em várias reacções, podendo originar a formação de pigmentos castanhos, conhecidos como melanoidinas (Hounhouigan et al., 2014; Martins, 2012). A medição do hidroximetilfurfural, é muitas vezes utilizada como indicador de reacções de Maillard, traduzindo-se numa verificação do desenvolvimento de escurecimento (Rattanathanalerk et al., 2005). Os sumos de fruta são produtos bastante suscetíveis à reação de Maillard devido ao seu elevado conteúdo em açúcares redutores, e apesar da quantidade de aminoácidos presentes no sumo ser reduzida, esta é suficiente para afetar a qualidade dos sumos (Costa, 2015).

Esta reação é favorecida por altas temperaturas levando a que o escurecimento ocorra mais depressa quanto maior for a temperatura (Burdurlu and Karadeniz, 2003). A temperaturas mais elevadas, pode também ocorrer a caramelização dos açúcares, levando a que estes sofram desidratação e condensação, sendo promotores do escurecimento dos sumos (Martins, 2012). Por este motivo, o recurso ao tratamento térmico, para redução e eliminação da contaminação microbiana e acção enzimática, pode afetar a qualidade do produto, ao alterar parâmetros indispensáveis à satisfação do consumidor, como a cor e sabor (Rattanathanalerk et al. 2005; Chutintrasri e Noomhorm 2006).

A presença de oxigénio e a incidência de luz, são outros factores que contribuem para o escurecimento não enzimático. A sua presença é promotora do escurecimento do sumo de ananás, pois oxida carotenóides e o ácido ascórbico presentes no sumo, produzindo pigmentos escuros por polimerização e levando à perda das características organoléticas apreciadas nos

sumos de fruta (Ajibola et al., 2009; Silva, 2015). O ácido ascórbico presente nos sumos pode ser natural ou adicionado, e a sua oxidação resulta da sua reacção com os grupos amino.

O ácido ascórbico possui então a capacidade de iniciar a sua própria via de escurecimento não enzimático, que leva ao aparecimento do furfural. Este, por ser um aldeído altamente reativo, pode combinar-se com grupos aminas livres e assim participar também na reacção de Maillard (Costa, 2015). O ácido ascórbico exposto a altas temperaturas sofre também degradação (Hounhouigan et al., 2014). Por exemplo, segundo Akynele et al, (1990) a pasteurização do sumo de ananás a 99°C durante 17 minutos, causa uma perda de 94% de vitamina C.

Como os compostos fenólicos são também sensíveis ao calor, as altas temperaturas usadas no processamento térmico como é o caso da pasteurização, podem alterar a sua estrutura e funcionalidade destes nos sumos (Costa, 2015), conduzindo a compostos que alteram também a cor dos sumos. As mudanças de cor em sumos de fruta, podem também dever-se à formação de complexos de ferro, cobre e magnésio com os compostos fenólicos. Na presença destes iões metálicos, as constantes de degradação do ácido ascórbico em sumos de fruta são superiores quando comparados com sumos que não contêm iões metálicos, contribuindo assim para a degradação oxidativa do ácido ascórbico e consequente escurecimento nos sumos de fruta (Costa, 2015).

Embora o escurecimento não enzimático seja favorecido por temperaturas mais elevadas, durante o armazenamento em refrigeração, este escurecimento pode ocorrer, mas a um ritmo mais reduzido (Burdurlu e Karadeniz 2003).

1.3 TECNOLOGIAS DE PROCESSAMENTO DO ANANÁS E DE CONSERVAÇÃO DO SUMO DE ANANÁS

Prolongar o tempo de vida de um sumo, com todas as características iniciais, é fundamental para a indústria dos sumos de fruta e mais desafiante quando se pretende armazenar à temperatura ambiente. O tratamento térmico, é o método mais utilizado, devido à sua eficácia na inativação de microrganismos e enzimas, permitindo prolongar o tempo de prateleira dos produtos. Recorre-se então, muito frequentemente, à pasteurização e esterilização, como métodos eficazes para obtenção de sumos seguros microbiologicamente e em que enzimas como a PPO, que podem alterar as características do sumo, são inativadas. No entanto, o uso de elevadas temperaturas, pode levar a mudanças na qualidade dos sumos, o que se torna desfavorável (Chia et al., 2012; Khalid et al., 2016). Nomeadamente, pode ocorrer o escurecimento não enzimático e destruição de pigmentos, o que pode influenciar o interesse do consumidor pelo produto (Rattanathanalerk et al., 2005). Diversas tecnologias, alternativas ao recurso a temperaturas elevadas têm então vindo a ser testadas com o intuito de promover a qualidade do sumo de ananás, minimizando efeitos no sabor, cor e valor nutricional, produzindo um sumo com características semelhantes a um sumo fresco (Chia et al., 2012). Em seguida, algumas das tecnologias utilizadas serão listadas e brevemente descritas.

A utilização de um tratamento térmico mais suave permite a preservação da cor e sabor que seria perdida se o sumo recebesse um tratamento térmico mais intenso, necessário para matar esporos (Hounhouigan et al., 2014). O risco microbiológico é elevado quando a carga microbiana inicial é elevada e com potencial para a presença de esporos.

O sumo de ananás, antes de chegar ao seu destino final, é normalmente concentrado, com o propósito de haver uma redução nos custos do seu transporte, embalagem e armazenamento, de forma a que o produto tenha um tempo de operação comercial mais longo, bem como uma melhor conservação, reduzindo a atividade da água (Assawarachan e Noomhorm 2010). A água é então removida, na forma de vapor, havendo uma conservação dos compostos, como as vitaminas, minerais e açúcares. A taxa de concentração pode ser afetada por diversos fatores como as condições de operação, o tipo de evaporador e as características da amostra a ser concentrada (Assawarachan e Noomhorm 2010).

O processamento com o uso de alta pressão (HPP), permite a inativação microbiológica com um efeito mínimo na qualidade nutricional e sem a utilização de temperatura, através do uso de elevadas pressões hidrostáticas. Através da escolha das condições de operação corretas, é possível a eliminação completa de células vegetativas e esporos de forma a obter produtos com um tempo de prateleira estáveis, mantendo as características nutricionais do produto. Esta técnica permite também a preservação dos componentes termossensíveis (Chakraborty et al., 2015). A aplicação desta técnica à temperatura ambiente (30°C) tem a capacidade de reduzir a carga microbiana para um nível aceitável, mas para inativação de enzimas é necessário o uso de temperaturas moderadas (Chakraborty et al., 2015, 2014). De forma a agradar o consumidor, as condições para o uso desta tecnologia têm que ser otimizadas, no sentido de obter um puré de ananás minimamente processado (Chakraborty et al., 2015; Sinha et al., 2012). Uma desvantagem associada a esta tecnologia, reside na dificuldade em manter a estabilidade dos sumos, uma vez que não ocorre inativação enzimática e os compostos sólidos existentes nestes, têm tendência a precipitar e clarificam o sumo, tornando-o com um aspeto menos aceitável do ponto de vista do consumidor (Fernando, 2016).

O uso de radiação ultravioleta (UV), em que não há o recurso ao uso de temperatura, permite a destruição de microrganismos nos alimentos (Chia et al., 2012; Shamsudin et al., 2013). Goh e colaboradores, observaram que o uso de irradiação por UV levou à inativação total de bactérias viáveis, bolores e leveduras em cerca de 90,99% no sumo de ananás (Goh et al., 2012). Sumos tratados com UV demonstram também um menor decaimento do teor em ácido ascórbico após tratamento, quando comparados com sumo de ananás tratado termicamente, no entanto, são ainda necessários mais estudos acerca do tratamento UV e o seu efeito na estabilidade dos compostos antioxidantes (Goh et al., 2012). Em comparação com sumos que sofreram tratamento térmico, os sumos tratados com UV demonstraram uma maior alteração na maioria das suas características físico-químicas durante o tempo de armazenamento, mas quando em comparação com sumos não tratados ou frescos, este obteve um maior tempo de vida útil. Ainda em comparação com sumos tratados com

tratamento térmico, verificou-se que os sumos tratados com UV preservaram melhor os atributos de qualidade destes, como por exemplo o teor em ácido ascórbico, ou o conteúdo em compostos fenólicos totais e parâmetros de cor, demonstrando que a possibilidade do uso desta tecnologia não deve ser descartada (Chia et al., 2012).

A tecnologia de ultrassons, é aplicada para inativação de enzimas responsáveis pela degradação de sumos de fruta como a pectina metilesterase, peroxidases e polifenoloxidasas. O decréscimo na atividade da PPO apresenta uma boa correlação com a perda de proteína no sumo (embora o teor de proteína no sumo seja muito reduzido, tal como discutido no início deste capítulo) e preservação da cor ao longo do tempo de armazenamento. Apesar desta tecnologia não levar a uma inativação total da enzima polifenoloxidase, é uma alternativa a considerar como pré-tratamento não térmico para o sumo de ananás (Costa et al., 2013). O tratamento com ultrassons permite uma extração do sumo a partir da fruta com um rendimento consideravelmente melhorado e um tempo de processamento mais curto (Khalid et al., 2016).

No processamento da fruta, um dos parâmetros críticos é a taxa de extração. O uso de enzimas como pectinases e celulasas é aplicado para aumentar a recuperação da polpa ou resíduos. A utilização destas enzimas individualmente ou combinadas, permitem a recuperação de 81-86% quando comparado com os 72% dos métodos convencionalmente utilizados, sendo normalmente utilizadas em processos como a ultrafiltração e a microfiltração.

O método de ultrafiltração pode ser utilizado para separar sumos de polpa concentrada, que contém os sólidos do sumo e retém os microrganismos, e uma fração clarificada, livre de contaminação microbiológica. Esta tecnologia é uma alternativa a considerar para a preservação dos sumos clarificados devido ao uso de temperaturas moderadas, ser uma operação simples e de fácil ajuste (Laorko et al., 2010). Para que haja um melhor desempenho na filtração, um tratamento enzimático prévio é aplicado aos sumos de forma a hidrolisar os polissacáridos solúveis presentes, que podem ser responsáveis pelo aumento da viscosidade do produto (de Barros et al., 2003). A fração clarificada e pasteurizada pode passar por concentração de membrana sem uso de temperatura e o que permanece na membrana, a polpa que ainda contém uma quantidade de sumo, pode ser pasteurizada e um sumo com as duas fases pode ser reconstituído (de Barros et al., 2003; Laorko et al., 2010). Esta técnica permite a retenção dos compostos nutricionais e associados ao sabor, permanecendo no sumo que passa na membrana. Esta técnica constitui então uma forma simples de processar uma grande quantidade de sumo clarificado sem a perda de compostos solúveis sensíveis ao uso de elevadas temperaturas (Laorko et al., 2010).

A microfiltração é também uma outra alternativa, semelhante à ultrafiltração, sendo uma das vantagens em relação ao tratamento térmico o uso de condições de pressão e temperatura moderadas, permitindo manter a qualidade sensorial e nutricional dos produtos clarificados (Carneiro et al., 2002). Uma das desvantagens é haver um declínio do fluxo da fração clarificada ao longo do tempo pois os compostos ficam retidos na superfície ou poros da membrana. Tal como na ultrafiltração, o recurso a um tratamento enzimático prévio, melhora a performance da técnica (Carneiro et al., 2002). Carneiro e colaboradores, através do uso desta

técnica, obtiveram um sumo clarificado, com um elevado grau de esterilização preenchendo os requisitos de segurança microbiológicos para o produto obtido (Carneiro et al., 2002). De acordo com a capacidade de separação, a ultrafiltração e a microfiltração podem ser utilizadas na esterilização a frio dos sumos de ananás clarificados. Estes processos combinam a clarificação dos sumos e a esterilização numa só operação (Laorko et al., 2010). A performance da filtração por membrana é limitada pelo enchimento da membrana que resulta num declínio de fluxo e na possibilidade de mudanças nas características do produto (Laorko et al., 2010).

A evaporação a vácuo é utilizada para evitar um uso de temperaturas elevadas e mudanças no sabor e cor do sumo, que normalmente são afetados quando são utilizadas elevadas temperaturas e tempos de processamento (Assawarachan e Noomhorm 2010). Esta, é muito utilizada na indústria de produção de sumos concentrados e possui vantagens de utilização como a capacidade de obtenção de elevadas concentrações, versatilidade em concentrar diferentes produtos e permitir que outros procedimentos ocorram em simultâneo (Couto et al., 2011). O sumo de fruta é então evaporado com uma elevada qualidade em relação aos processos convencionais pois podem ser utilizadas baixas temperaturas (Assawarachan e Noomhorm 2010).

A concentração por centrifugação a temperaturas de congelação é um método que permite obter uma elevada qualidade dos sumos concentrados. A água é congelada e perdas nutricionais, de cor, sabor e aroma são diminuídas, quando comparadas com outras tecnologias com recurso ao processamento térmico (Bonilla-Zavaleta et al., 2006). A separação dos sumos do concentrado que se forma com gelo é realizada através de centrifugação em tubos de aço inoxidável, no entanto, é necessário um controlo de temperatura de forma a obter uma concentração desejada. Este método utiliza a centrifugação e permite obter um sumo concentrado de ananás com preservação do perfil aromático, obtendo-se um rendimento de 50% (Bonilla-Zavaleta et al., 2006).

A eletrodíálise pode ser uma alternativa a considerar na preservação dos sumos de fruta pois não envolve tratamento térmico, mantendo os aspetos nutricionais e sensoriais do produto (Sairi et al., 2004). Esta técnica consiste no processo de separação eletroquímica na qual espécies iónicas são transportadas de uma solução para outra passando por uma ou mais membranas permeáveis e seletivas, sob uma corrente elétrica (Sairi et al., 2004). Esta técnica é utilizada para redução da acidez no sumo, demonstrando um aumento considerável na doçura, no entanto, o conteúdo em minerais foi reduzido, quando em comparação com sumo de ananás fresco sem passar por eletrodíálise (Khalid et al., 2016).

1.3.1 APLICAÇÃO DE QUITOSANO EM SUMOS DE FRUTA

Após a colheita, perdas nutricionais ocorrem em frutos ou vegetais nomeadamente a redução do conteúdo em vitamina C e polifenóis devido a mudanças fisiológicas durante o armazenamento, diminuindo os efeitos benéficos que estes têm para a saúde de quem os consome (Lin e Zhao 2007).

A procura constante de formas de conservação dos alimentos, prolongando assim o tempo de prateleira destes, tem vindo a originar a investigação em diversas áreas sendo um deles a utilização de biopolímeros de origem alimentar ou de resíduos alimentares (Elsabee e Abdou 2013). Nestes polímeros, de uma vasta origem, estão incluídos os amidos, derivados de celulose, quitosano/quitina, gomas, proteínas (de origem animal ou vegetal) e lípidos (Elsabee e Abdou 2013). Um dos polímeros, o quitosano, sob o qual têm recaído alguns estudos, reside no uso deste para revestimento, ou como veículo de introdução de outros compostos nos produtos alimentares, nomeadamente em sumos de fruta (Souza e Fernando 2016; Souza et al. 2017).

A quitina é um biopolímero existente no exosqueleto dos crustáceos, na paredes celulares de fungos e em outros materiais biológicos (Elsabee e Abdou 2013). O quitosano é um derivado da quitina resultando da desacetilação da quitina em meio alcalino (Elsabee e Abdou 2013). Este tem diversas vantagens de utilização devido às suas propriedades antimicrobianas e antifúngicas bem como a sua biodegradabilidade, biofuncionalidade, biocompatibilidade e ausência de toxicidade, que o tornam útil para uso alimentar (Dutta et al., 2009; Kerch, 2015).

A utilização de quitosano, devido à sua capacidade de formar filmes ou como revestimentos edíveis, tem um elevado interesse na indústria alimentar (No et al., 2007). Os filmes ou revestimentos edíveis, constituem camadas finas de material que podem ser consumidos e que têm a capacidade de atuar como barreira a diferentes agentes potencialmente degradativos como o oxigénio e humidade (Eça et al., 2014).

O uso de quitosano em sumos baseia-se na sua potencialidade de ser utilizado como agente clarificante, tendo a capacidade de redução de turbidez bem como a capacidade de controlar a acidez (Chatterjee et al., 2004; No et al., 2007). O efeito sobre a acidez em sumos de fruta, reside na capacidade do quitosano se ligar aos ácidos (No et al., 2007).

Uma das aplicações passa pela adição de compostos ativos ao quitosano, como é o caso de antioxidantes, permitindo um aumento das propriedades funcionais do biopolímero, em especial no potencial de preservação dos alimentos (Sanchez-Gonzalez et al., 2011). A incorporação de antioxidantes em biofilmes ou revestimentos como extratos de plantas, α -tocoferol, ácido ascórbico ou ácido cítrico, tem vindo a ser muito estudada de forma a serem inseridos em diversos tipos de alimentos (Eça et al., 2014; No et al., 2007). O uso de antioxidantes permite uma manutenção eficiente da qualidade de diversos alimentos, no entanto, estes podem rapidamente degradar-se devido a processos oxidativos (Eça et al., 2014). A sua incorporação e encapsulação em biopolímeros pode contribuir para que a sua oxidação seja minorada ao mesmo tempo que permite a libertação controlada para o meio onde a sua actividade antioxidante é necessária (Fernando, 2006).

A utilização de quitosano como forma de controlo de escurecimento enzimático tem também sido testada, devido à capacidade do polímero ser carregado positivamente e coagular os sólidos suspensos, os quais seriam alvo de ataque por parte da enzima polifenoloxidase (Sapers, 1992). O quitosano pode então ser adicionado em solução, como revestimento de

outros compostos para microencapsulação, como é o caso do ácido ascórbico, permitindo a sua libertação de forma gradual para o meio e protegendo o ácido da oxidação por contacto com o meio. Em sinergia, o quitosano pode também ter actividade na clarificação do sumo e atuar em termos de actividade antimicrobiana, reduzindo a proliferação microbiológica.

Diversos estudos têm já sido realizados para compreensão do possível uso de quitosano em sumos de fruta, constituindo uma alternativa à utilização de outros aditivos devido às suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas. A adição de quitosano em solução com ácido ascórbico e em pó foi estudada em sumos de maçã, onde se observou que este contribuiu para a manutenção de maior parte das suas características nutricionais e sensoriais sendo que desempenhou um papel importante na redução do escurecimento enzimático (Bértolo, 2011). O uso de quitosano como alternativa à aplicação de conservantes sintéticos foi também objeto de estudo por parte de Costa, tendo como matriz refrigerantes de fruta, nomeadamente refrigerante de ananás (Costa, 2015). Filmes de quitosano reticulados com genipinina foram elaborados e introduzidos nos refrigerantes, pelo que o seu comportamento foi avaliado ao longo de 6 meses de armazenamento. Observou-se que a temperaturas de armazenamento mais elevadas, a degradação dos filmes se tornou mais acentuada, havendo uma perda de compostos fenólicos e degradação de ácido ascórbico. O uso destes filmes reticulados demonstrou a sua eficácia em vinhos, porém, a sua adição em refrigerantes, que possuem um elevado teor de açúcares, levou à sua destruição (Costa, 2015).

O uso de biofilmes e revestimentos edíveis contendo antioxidantes constitui uma alternativa bastante vantajosa, pois estes constituem uma alternativa natural e biodegradável ao uso de químicos, atuando como barreiras protetoras contra possível ataque de microrganismos e permitindo um maior tempo de prateleira dos produtos (Eça et al., 2014).

1.4 OBJETIVOS

A qualidade dos produtos provenientes das indústrias dos sumos e refrigerantes é influenciada por diversos fatores, como as características do fruto e todos os fatores inerentes à sua colheita e armazenamento bem como o processamento até à obtenção do produto final. É de extrema importância garantir que o produto final é estável do ponto de vista nutricional, sensorial e microbiológico de modo a estender o prazo de vida útil do produto. Existe também uma tendência pela procura de produtos com menor grau de processamento e elevado valor nutricional, contendo compostos bioativos e com propriedades sensoriais próximas da fruta fresca.

A alteração da cor dos concentrados a partir dos quais os sumos são elaborados ou mesmo dos sumos como produto final, constitui um efeito adverso e o qual as indústrias têm bastante interesse em combater. A alteração da cor pode ter origem em diversos fatores, como resultado de processos oxidativos via enzimática ou não enzimática. Há, portanto, um interesse em desenvolver fórmulas com o intuito de reduzir ou atenuar o escurecimento característico do sumos de fruta.

Este trabalho pretende, por isso, fornecer um contributo para o estudo da estabilidade da cor em sumos de ananás. Para tal, este estudo incide primeiramente na caracterização de concentrados de ananás e avaliação do seu comportamento em armazenamento sob refrigeração (4°C). Após esta etapa, sumos elaborados a partir dos concentrados de ananás são sujeitos a diferentes binómios tempo/temperatura, estudando-se a evolução das suas características ao longo do tempo. O desenvolvimento de biofilmes de quitosano com incorporação de ácido ascórbico para adição nos sumos de ananás e avaliação do seu efeito constitui a terceira parte desta dissertação e um dos pontos importantes deste estudo, de forma a avaliar o seu possível efeito na redução do escurecimento dos sumos. A incorporação de ácido ascórbico em biofilmes de quitosano constitui então uma possibilidade de libertação mais controlada deste antioxidante, o que pode permitir prolongar o tempo de vida útil do produto.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATÉRIA PRIMA

A matéria prima utilizada nos ensaios do decorrer deste trabalho foi fornecida por uma empresa do setor alimentar, disponibilizando esta, concentrado de ananás proveniente de diferentes lotes para este efeito. Os concentrados de ananás foram armazenados e transportados em condições de refrigeração (4°C) até às instalações do Departamento de Ciências e Tecnologia da Biomassa da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa (FCT-UNL), onde foi congelado a -20°C, até posterior análise e utilização nos ensaios.

2.2 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO DOS CONCENTRADOS E SUMOS DE ANANÁS

2.2.1 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE PESO SECO

A determinação da percentagem de peso seco foi realizada segundo o método descrito pela AOAC (AOAC, 1990).

As cápsulas foram previamente secas em mufla Heraeus Eletronic KR 170 E a $550 \pm 25^\circ\text{C}$ durante 1 hora, sendo depois transferidas para um exsiccador até atingirem a temperatura ambiente. Pesaram-se na balança analítica METTLER TOLEDO AB204, e o seu peso foi registado. Nas cápsulas, pesou-se 1g de concentrado de ananás e, devido ao elevado conteúdo em água, estas foram colocadas em banho a 95°C até a água evaporar. Foram levadas à estufa, a $105 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 1 hora e posteriormente, colocadas no exsiccador até atingirem a temperatura ambiente. As cápsulas com as amostras foram pesadas em balança analítica METTLER TOLEDO AB204 e o seu valor registado. As determinações realizaram-se em duplicado para cada uma das amostras analisadas.

A obtenção do teor em peso seco, é dado através da seguinte equação (2.1), expressa em percentagem:

$$\frac{p_3 - p_1}{p_2 - p_1} \times 100 \quad \text{equação 2.1}$$

onde p_1 representa a massa da cápsula, expressa em gramas; p_2 a massa da cápsula com amostra, antes da secagem, expressa em gramas; p_3 a massa da cápsula com amostra depois da secagem, expressa em gramas.

2.2.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR EM CINZAS

O teor em cinzas da amostra foi determinado segundo a AOAC (1990) (AOAC, 1990). As cápsulas com amostra já secas e anteriormente pesadas, utilizadas em 2.2.1 (teor de peso seco) foram colocadas numa mufla Heraeus Eletronic KR 170 E a $550 \pm 25^\circ\text{C}$ durante 2 horas. Após retiradas da mufla, as cápsulas com amostra foram colocadas num exsiccador até atingirem a temperatura ambiente e de modo a que o seu peso não sofresse oscilações. Procedeu-se então à sua pesagem em balança analítica METTLER TOLEDO AB204, e

registou-se o seu valor. A determinação realizou-se em duplicado para cada uma das amostras.

O teor em cinzas presente na amostra, expresso em percentagem, é dado através da equação 2.2:

$$\frac{p_2 - p_0}{p_1 - p_0} \times 100 \quad \text{equação 2.2}$$

onde p_0 representa a massa da cápsula expressa em gramas; p_1 a massa da cápsula com amostra pré-secagem, expressa em gramas; p_2 a massa da cápsula com cinzas, expressa em gramas.

2.2.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR EM PROTEÍNA BRUTA

A proteína bruta foi determinada segundo método de Kjeldahl (Fernando, 2015), a partir do qual se quantificou o azoto total presente na amostra (Watts e Halliwell 1996). Ao se quantificar o azoto total, é então possível convertê-lo em proteína bruta, considerando que todo o azoto presente na amostra está na forma proteica. O teor em proteína bruta é então obtido através da multiplicação da percentagem de azoto total por um fator de conversão baseado na percentagem de azoto presente na proteína. Admitindo que a maior parte das proteínas possuem cerca de 16% de azoto e por não existir informação especificamente da matriz em estudo, recorreu-se ao uso do fator de conversão por defeito, com o valor de 6,25 (Adrian et al., 2000).

Na determinação do teor de proteína bruta, pesaram-se numa balança Ohaus Explorer Pro EP213, 2 g de amostra para um tubo de digestão. Adicionaram-se 10 mL de H_2SO_4 (95-97% de pureza, Chem – Lab NV), uma pequena quantidade de mistura catalisadora, constituída por selénio e sulfato de potássio (2 g de Se com 99% de pureza, Riedel-de-Haën em 200g de K_2SO_4 , Panreac) e esferas de vidro como reguladores de ebulição. O tubo de digestão colocou-se no digestor Tecator 2006 a 360°C até a amostra se tornar incolor. Durante o período de digestão, foi necessária a adição de cerca de mais 10 mL de H_2SO_4 (95-97% de pureza, Chem – Lab NV).

Finda a digestão e arrefecimento, transferiu-se a amostra digerida para um balão de 100 mL, tendo sido esta filtrada e a solução aferida com água milli-Q (água ultra – pura). A solução foi transferida para um frasco e armazenada.

Para obtenção do teor de azoto total, colocaram-se 50 mL de amostra digerida e 50 mL de água destilada num tubo de destilação, onde se adicionou 3 gotas de fenoltaleína (solução 1%, Panreac). Para que o meio ficasse alcalino, adicionou-se uma solução 6N de NaOH até ao conteúdo adquirir uma cor rosa. Num erlenmeyer de 250 mL, adicionou-se 50 mL de uma solução 20 g/L de ácido bórico e 0,5 mL de uma solução indicadora de ácido bórico, de modo a que esta solução ficasse com uma cor roxa. A destilação da amostra realizou-se em destilador Kjeltex System 1002 Distilling Unit Tecator, recolhendo-se o destilado no erlenmeyer de 250

mL cuja solução passou a ter uma cor verde. Titulou-se o conteúdo do erlenmeyer com uma solução 0,02N de HCl até a solução ficar de novo roxa e registou-se o volume de titulante gasto. Toda a determinação foi realizada em duplicado para cada uma das amostras.

A quantidade de azoto total, em matéria húmida, presente na amostra e conversão em percentagem de proteína bruta é expressa em percentagem pela seguinte equação (2.3):

$$\frac{V_{\text{titulante}} \times N \times 14 \times V_{\text{balão}} \times 100}{V_{\text{amostra}} \times 1000 \times m_{\text{amostra}}} \times 6,25 \quad \text{equação 2.3}$$

onde $V_{\text{titulante}}$ representa o volume de titulante, HCl gasto na titulação, em mL; N corresponde à normalidade do titulante; $V_{\text{balão}}$ corresponde ao volume do balão onde se armazenou o digerido, em mL; V_{amostra} representa o volume de amostra utilizada na destilação, em mL e m_{amostra} corresponde à massa de amostra utilizada na digestão, em gramas.

2.2.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR EM FÓSFORO

Na determinação do teor de fósforo total, utilizou-se uma modificação do método descrito por Watts e Halliwell (Watts e Halliwell 1996).

Para a determinação do fósforo, tanto para a preparação dos reagentes bem como para a preparação das amostras, utilizou-se sempre água ultrapura (Milli-Q). Este ensaio foi realizado em duplicado para cada uma das amostras.

Num balão de 100 mL, adicionou-se a 1 mL de amostra, previamente digerida em 2.2.3, 1 gota de fenoftaleína (solução 1%, Panreac) e uma solução 6N de NaOH até a solução apresentar uma cor rosa. Após se adicionar um pouco de água Milli-Q, 8 mL de agente redutor (250 mL de solução 5 N de H_2SO_4 , 25 mL de uma solução 2,8 g/L Tartarato de Potássio e Antimónio, 75 mL de uma solução 40 g/L de Molibdato de Amónio e 2,6 g ácido ascórbico, em 500 mL) e aferiu-se o balão com água Milli-Q.

As amostras foram incubadas cerca de 30 minutos e as suas absorvâncias foram lidas no espectrofotómetro Shimadzu UV-120-11 a um comprimento de onda 880 nm.

A reta de calibração, com diferentes concentrações de solução de fosfatos (0, 0,025, 0,05, 0,10, 0,15, 0,20 e 0,25 mg de P/L) foi elaborada a partir de uma solução stock de fosfatos (KH_2PO_4 anidro em água Milli-Q). Cada padrão foi elaborado em balões de 100 mL, contendo um determinado volume de solução padrão, 8 mL de agente redutor e por fim, perfeitos com água Milli-Q. Incubaram-se os padrões durante 30 min e a sua absorvância lida a 880 nm.

Os resultados foram expressos em mg de P/ 100 g e calculados através da equação 2.4:

$$\frac{x_1 \times v_1 \times b_1}{v_2 \times p_1} \quad \text{equação 2.4}$$

onde x_1 corresponde ao valor em mg/L (P) retirado da curva de calibração, através do valor da absorvância obtido a 880 nm; v_1 representa o volume do balão utilizado para a medição da

absorvância, em mL; b_1 representa o volume do balão no qual a amostra digerida foi armazenada, expresso em mL; v_2 representa o volume de amostra digerida e reservada, utilizada na reação com o agente redutor, expresso em mL e p_1 representa a massa de amostra utilizada na digestão, expressa em gramas.

2.2.5 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA ENZIMA POLIFENOLOXIDASE (PPO)

O método para a determinação da atividade da enzima polifenoloxidase nos concentrados e sumos de ananás foi adaptado de Abouraïcha et al. (2015).

Para determinação da atividade da enzima, preparou-se um extrato a partir dos concentrados, em que se adicionou 20 g de amostra e 40 mL de tampão de extração (100 mM fosfato de sódio, pH 6,4, 1 mM de EDTA e 5% (p/v) de polivinilpirrolidona). Homogeneizou-se no Ultra-turrax IKA T18 digital, em gelo, durante 3 minutos com 1 minuto de intervalo, repetindo-se o processo duas vezes a 10 000 rpm e a última vez a 12 000 rpm. Centrifugou-se a 16 000 g, durante 30 minutos, a 4°C em centrífuga SIGMA 4K15C, recolheu-se o sobrenadante e conservou-se em gelo até análise.

Numa célula de vidro adicionou-se 200 µL de extrato a 2 mL de uma solução de 10 mM de catecol em tampão fosfatos 100mM, pH 6,4. As absorvâncias foram lidas a 420 nm num espectrofotómetro SPEKOL 1500 Analytik Jena e registadas de 2 em 2 segundos durante 3 minutos. Um branco foi realizado tendo na sua constituição 200 µL de tampão de extração e 2 mL de solução de substrato.

A atividade enzimática foi determinada sabendo que uma unidade de PPO se define como a quantidade de enzima que causa um aumento da absorvância de 0,01 a 420 nm por minuto.

Não se realizou a determinação da enzima Peroxidase devido a não se considerar pertinente para este ensaio uma vez que o seu contributo para a alteração de cor do sumo de ananás é reduzido.

2.2.6 DETERMINAÇÃO DO TEOR EM ÁCIDO ASCÓRBICO

O teor em ácido ascórbico foi determinado através de titulação com o corante 2,6 – diclorofenolindofenol (DCPIP) segundo Adrian et al. (Adrian et al., 2000). Esta técnica baseia-se nas diferenças de cor que o DCPIP apresenta na sua forma reduzida ou oxidada. Na presença de ácido ascórbico, este corante é reduzido e origina uma cor rosa, perdendo assim a sua cor azul característica da sua forma oxidada.

Para a sua realização preparou-se a solução a titular, em duplicado, contendo um determinado volume em mL de amostra de concentrado. Adicionou-se então 20 mL de água destilada e 1 mL de ácido acético glacial. Esta solução foi titulada com uma solução de 0,025% de DCPIP em água destilada até o titulado atingir uma cor rosa persistente. Realizou-se também um ensaio em que no lugar da amostra de concentrado, se utilizou uma solução padrão de ácido ascórbico 200 mg/L.

Os resultados foram expressos em mg/L de ácido ascórbico e estes valores obtidos a partir da equação 2.5:

$$\frac{200 \times V_1}{V_2 \times V_3} \quad \text{equação 2.5}$$

onde V_1 corresponde ao volume, em mL, de DCPIP gasto para titular a amostra e V_2 corresponde ao volume, em mL, gasto para titular 1 mL da solução padrão de ácido ascórbico e V_3 é o volume de amostra utilizado na titulação. No cálculo final em mg/L (sumo) ou mg/kg (polpa), teve-se em conta o fator de diluição da amostra (quando necessário).

2.2.7 DETERMINAÇÃO DO TEOR EM SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS (SST)

O teor de sólidos solúveis totais foi determinado através de refratometria. Num refratômetro analógico manual HANNA Instruments HI 96801, colocou-se uma pequena amostra de concentrado ou sumo e procedeu-se à sua leitura, em duplicado, à temperatura ambiente. Os resultados desta determinação foram expressos em °Brix.

2.2.8 DETERMINAÇÃO DO pH

A medição de pH realizou-se por método potenciométrico. No caso dos concentrados de ananás, pesaram-se cerca de 5 g em balança Explorer Pro EP213 de amostra e adicionaram-se 50 mL de água destilada a 40°C e agitaram-se durante aproximadamente 15 minutos. Para os sumos pipetaram-se 10 mL de sumo e adicionou-se 40 mL de água destilada, estando sobre agitação durante aproximadamente 15 minutos. Após o tempo de agitação procedeu-se à leitura do pH com o medidor CRISON micro pH 2001. Esta determinação foi realizada em duplicado para cada amostra.

2.2.9 DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ TITULÁVEL

Para determinação da acidez titulável segundo AOAC (1990), utilizaram-se as mesmas amostras no seguimento do ponto **2.2.8**. (AOAC, 1990). Nas amostras colocaram-se 2 a 3 gotas de fenoftaleína (solução 1%, Panreac) e, sobre agitação, titularam-se a com uma solução 0,1 N de NaOH até obtenção de um tom rosa pálido. Os valores do volume de NaOH 0,1 N utilizado na titulação foram registados de modo a determinar o índice de acidez em ácido cítrico. Esta percentagem é expressa através da equação 2.6, abaixo descrita:

$$\frac{V_{NaOH} \times N \times 19,2}{p_1} \quad \text{equação 2.6}$$

em que V_{NaOH} representa o volume, em mL, de titulante, NaOH, gasto na neutralização dos ácidos; N representa a normalidade de NaOH utilizada na titulação e p_1 a massa de amostra, em g, utilizada inicialmente.

2.2.10 DETERMINAÇÃO DA COR

A cor foi medida através do uso do colorímetro CR-410, Konika Minolta. Antes das medições serem realizadas o aparelho foi devidamente calibrado e a partir destas, obtiveram-se as coordenadas de cor do sistema de escala de Hunter (L,a,b). Neste sistema o valor de L, representa a luminosidade, que quanto maior o seu valor, mais claro, a a variação da gama de cor entre vermelho (+) e verde (-) e b a gama entre amarelo (+) e azul (-), permitindo uma determinação precisa da cor tridimensionalmente. Com a obtenção destes parâmetros vários cálculos foram realizados, segundo Mohammadi et al. (2008).

Calculou-se o valor total da mudança de cor (ΔE) dada pela equação 2.7:

$$\Delta E = \sqrt{(L_0 - L)^2 + (a_0 - a)^2 + (b_0 - b)^2} \quad \text{equação 2.7}$$

Calculou-se também os valores do Índice de escurecimento (equação 2.8) e os valores do ângulo de Hue (equação 2.9), representando a determinação da cor. Estes parâmetros foram determinados a partir das seguintes equações, respetivamente:

$$IE = \frac{[100 \times (\kappa - 0,31)]}{0,17} \quad \text{em que, } \kappa = \frac{(a + 1,75L)}{(5,645 \times L + a - 3,012b)} \quad \text{equação 2.8}$$

$$\text{Ângulo de Hue} = \arctan^{-1}\left(\frac{b}{a}\right), \text{ se } a > 0; \arctan^{-1}\left(\frac{b}{a}\right) + 180, \text{ se } a < 0 \quad \text{equação 2.9}$$

2.2.11 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Na determinação dos compostos fenólicos totais utilizou-se o método de Folin – Ciocalteu adaptado de Singleton e colaboradores (Singleton et al., 1999).

No caso dos concentrados, estes foram previamente diluídos na proporção de 1:10 em água destilada e foram posteriormente filtrados. No caso dos sumos procedeu-se apenas à sua filtração.

Adicionou-se, em tubos de ensaio, 1 mL de amostra (0,1 mL de amostra e 0,9 mL de água destilada), 3 mL de água destilada, 0,25 mL de reagente de Folin-Ciocalteu e agitou-se em vórtex VWR Analog Vortex Mixer para homogeneizar a solução. Após 2 minutos, adicionou-se 0,75 mL de uma solução de 20% (m/v) de carbonato de sódio e agitou-se novamente no vórtex. Os tubos foram incubados durante 1 h, à temperatura ambiente, no escuro. Um branco preparado do mesmo modo, mas com a substituição da amostra por água foi também realizado. Todas as amostras foram preparadas em duplicado. Após este tempo de incubação, procedeu-se à leitura da absorvância no comprimento de onda de 760 nm em espectrofotómetro SPEKOL 1500 Analytik Jena.

Uma curva de calibração com ácido gálico em diferentes concentrações (0 – 100 mg EAG/L) foi realizada e os resultados expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG/L).

2.2.12 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Esta determinação tem como base a avaliação da capacidade de sequestro do radical 2,2 – difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) por parte de um antioxidante (Brand-Williams et al., 1995).

Para esta determinação, os concentrados foram, tal como em **2.2.11.**, diluídos e filtrados e os sumos foram apenas sujeitos a filtração.

Preparou-se uma solução etanólica 60 µMol de DPPH e em tubo de ensaios, adicionou-se 3 mL desta solução e 1 mL de amostra, com diluição apropriada. Os tubos foram incubados durante 20 minutos, à temperatura ambiente e no escuro para posterior leitura. As leituras das absorvâncias foram lidas em espectrofotómetro SPEKOL 1500 Analytik Jena, a um comprimento de onda de 517 nm. Realizou-se também um controlo em que no lugar de amostra se adicionou 1 mL de água destilada. Uma curva de calibração com ácido ascórbico com diferentes concentrações foi realizada e os resultados expressos em mg de equivalentes de ácido ascórbico por mL.

2.3 FASES DE ENSAIO

Este trabalho prático contemplou 3 fases de ensaios. Após receção dos concentrados de ananás estes foram aliquotados e uma parte foi congelada para posterior análise e utilização em ensaios e outra porção foi mantida em câmara de refrigeração. Estes concentrados foram caracterizados do ponto de vista químico, quanto ao seu teor em peso seco, cinzas, teor em proteína bruta, teor em fósforo, teor de sólidos solúveis totais, pH, acidez titulável, cor, teor em ácido ascórbico, atividade da PPO, compostos fenólicos totais e quanto à sua atividade antioxidante. A enzima peroxidase não foi avaliada nem neste ensaio nem em todo o estudo.

Um primeiro estudo foi realizado ao longo de quatro semanas para avaliar o comportamento das polpas em refrigeração (4°C). Neste estudo, realizou-se a determinação do pH, acidez titulável, teor em ácido ascórbico, atividade da enzima PPO, cor, onde se avaliou a evolução da coordenada de cor L, variação da cor, índice de escurecimento e ângulo de Hue, teor em compostos fenólicos totais e atividade antioxidante.

Na segunda fase de trabalhos, foi elaborado sumo a partir de três lotes de concentrados, F121, F122A e AN09/05, previamente descongelados e estes foram sujeitos a pasteurização com diferentes temperaturas e tempos. Para tal, foi elaborado sumo a partir de cada lote, numa proporção de 1:10 e distribuído por diferentes frascos. As pasteurizações foram realizadas em banho de água numa placa de aquecimento. Até atingir a temperatura de pasteurização pretendida, os sumos permaneceram em banho cerca de 15 a 20 minutos. O tratamento térmico e a duração do mesmo encontram-se listados na tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Temperaturas e tempos de pasteurização

Temperatura de pasteurização (°C)	Tempo sujeito a tratamento térmico (min)
75	5
	30
80	5
	30
85	5
	30
90	5
	5

Posteriormente, os sumos foram acompanhados ao longo de 28 dias para avaliação da estabilidade (química e da cor). Foram analisadas amostras aos 0, 7, 14, 21 e 28 dias e os frascos mantidos em estufa MEMMERT BKE 40 a 37°C, para aceleração dos fenómenos de degradação. Uma amostra controlo de sumo, de cada lote, sem ter sido sujeita a qualquer tratamento térmico foi armazenada nas mesmas condições e analisada nos mesmos tempos que as restantes. Realizaram-se análises ao pH, acidez titulável, ácido ascórbico, cor (coordenada de cor L, variação de cor, índice de escurecimento e ângulo de Hue), atividade da enzima PPO, teor de sólidos solúveis totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante.

Por fim, a terceira fase de trabalhos consistiu no estudo do comportamento de sumos (a partir dos lotes de concentrados F121, F122A E AN09/05), elaborados sem pasteurização e sujeitos a uma pasteurização de 75°C durante 5 minutos (binómio tempo/temperatura escolhido após o ensaio 2) onde foram inseridos filmes de quitosano (2,5 x 2,5 cm²). Estes filmes de quitosano possuem na sua constituição diferentes concentrações de ácido ascórbico (0, 1,5 e 3%), a fim de avaliar o seu comportamento, migração e ação nos sumos de ananás, ao longo do tempo. Um conjunto de sumos sem adição de filme de quitosano mas sujeitos aos restantes tratamentos, foram também armazenados sob as mesmas condições que os restantes e analisados de igual forma. Este ensaio teve a duração de 28 dias, e as amostras foram mantidas em estufa MEMMERT BKE 40 a 37°C, para aceleração dos fenómenos de degradação, sendo que as determinações foram feitas nos dias 0, 7, 14, 21 e 28. Nestes tempos de ensaio, efetuaram-se análise ao pH, acidez titulável, ácido ascórbico, cor, sendo avaliada a coordenada de cor L, variação de cor, índice de escurecimento e ângulo de Hue, atividade da enzima PPO, teor de sólidos solúveis totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante.

Os filmes de quitosano foram preparados a partir da dissolução de quitosano (Sigma-Aldrich, alto peso molecular) numa solução de 1% de ácido acético, em placa de agitação permanente durante cerca de 24 h à temperatura ambiente. A 40 mL de solução de quitosano adicionou-se a quantidade necessária de ácido ascórbico para a elaboração de filmes com concentrações 1,5 e 3% bem como 10 gotas de glicerol, como plastificante, e a solução foi homogeneizada em placa de agitação durante cerca de 5 min. Em placas de vidro (18 x 25

cm²), depositou-se as diferentes soluções de quitosano (quitosano, e quitosano contendo 1,5 e 3% de ácido ascórbico), realizados em duplicado, e estas foram armazenadas no escuro, num suporte nivelado, sob ventilação durante cerca de 48 h para secagem dos filmes. Após este período, os filmes foram retirados das placas de vidro e cortados em porções com dimensões de 2,5 por 2,5 cm².

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada através da análise da variância e as médias comparadas, através do programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS). Esta análise, através do teste de Tukey de modo a determinar diferenças significativas entre as médias, foi aplicada a todos os parâmetros, com um grau de significância de 0,05.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS CONCENTRADOS

Os concentrados foram caracterizados inicialmente e analisados segundo vários parâmetros, de forma a determinar as características físico-químicas destes e posteriormente prosseguir com os ensaios seguintes. Foram analisados quatro concentrados provenientes de diferentes lotes e denominados de F121, F122A, AN18/04 e AN09/05.

3.1.1 TEOR DE PESO SECO E CINZAS

Os concentrados de ananás apresentaram um teor de peso seco médio de 50,9%, sendo que os resultados estão apresentados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Valores médios de humidade e peso seco, expressos em percentagem, obtidos para os concentrados e desvio padrão (D.P.).

Concentrado	% Humidade $\pm$ D.P.	%Peso seco $\pm$ D.P.
F121	56 $\pm$ 0	44 $\pm$ 0
F122A	52 $\pm$ 1	48 $\pm$ 1
AN18/04	39 $\pm$ 1	61 $\pm$ 1
AN09/05	49 $\pm$ 1	51 $\pm$ 1

Segundo o INSA, para o sumo concentrado de ananás, o valor de água presente neste produto, é de 29,2% (INSA, 2017c). Um valor de 33,2% de humidade total foi reportado por Garza e Ibarz, sendo este valor referente a sumo de ananás concentrado, despectinizado e clarificado (Garza e Ibarz 2010). Outro valor é reportado, em que para o concentrado de ananás congelado, um valor de 53,10g de água em 100g de produto é apresentado, traduzindo-se num teor de humidade de 53,10% (Lobo e Paull 2017). Ao analisar os valores obtidos demonstra-se que estes estão dentro do intervalo de valores descritos na literatura para este tipo de matriz.

De forma a se obter um produto com a máxima qualidade, o ananás deve ser processado imediatamente após a colheita, sendo que o teor de peso seco e humidade dos concentrados vão depender não só deste fator bem como do modo de processamento e tipo de concentração utilizado (Lobo and Paull, 2017).

Relativamente ao teor em cinzas, expresso em percentagem de massa húmida, os concentrados apresentaram um valor médio de 1,6%, e os resultados para cada um dos concentrados encontram-se apresentados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 - Valores médios de cinzas, expressos em percentagem de massa húmida, obtidos para os concentrados e desvio padrão (D.P.).

Concentrado	% Cinzas $\pm$ D.P.
F121	1,7 $\pm$ 0,0
F122A	1,6 $\pm$ 0,0
AN18/04	1,5 $\pm$ 0,0
AN09/05	1,6 $\pm$ 0,1

Um valor de 1,12% de cinzas é apresentado segundo o INSA, sendo possível estabelecer uma relação entre este e o valor obtido de cinzas, em percentagem de massa húmida, para o qual se obteve um valor médio de 1,61% demonstrando assim que há uma semelhança entre os valores obtidos e os tabelados (INSA, 2017c). Estes valores são também semelhantes, embora ligeiramente mais baixos, comparativamente com outros produtos obtidos a partir de ananás, como o caso de sumo de ananás em pó, para o qual, Rosdan et al., reportam um valor de 2,07%. Para a polpa de ananás, estes mesmos autores, apresentam um valor de 0,80% de cinzas (Rosdan et al., 2012).

O conteúdo em cinzas pode ser influenciado por diferenças entre as variedades de uma fruta, no entanto, o fator determinante da concentração de minerais nas plantas é o tipo de solo utilizado para o cultivo (Selani et al., 2016).

3.1.2 TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS (°Brix)

O teor de sólidos solúveis totais, avaliados em °Brix, foi determinado para os concentrados em estudo, registando estes um valor médio de 56,7.

Os concentrados F121 e F122A apresentaram valores semelhantes e AN09/05 e AN18/04 valores ligeiramente mais elevados, encontrando-se os seus valores expressos na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 - Valores médios de Sólidos Solúveis totais, expressos em °Brix, obtidos para os concentrados e desvio padrão (D.P.).

Concentrado	°Brix $\pm$ D.P.
F121	53,9 $\pm$ 0,2
F122A	53,6 $\pm$ 0,7
AN18/04	60,1 $\pm$ 0,5
AN09/05	59,4 $\pm$ 0,1

Os valores apresentados, apesar de semelhantes, relativamente à literatura, apresentam-se ligeiramente elevados. Em Oyarzabal e colaboradores, é apresentado um valor para sumo concentrado de ananás com 59,8 °Brix, sendo este valor bastante aproximado dos obtidos (Oyarzabal et al., 2003). Outro valor semelhante, é descrito por Garza e Ibarz, reportando que para sumo de ananás concentrado despetinado e clarificado, o teor de sólidos solúveis totais é de 64,1 °Brix (Garza e Ibarz 2010). Num outro estudo, um valor de 75 °Brix é apresentado

para o concentrado de ananás, sendo este valor mais elevado que todos os outros determinados (Bhandari et al., 1997). Em outro estudo, um valor significativamente mais baixo foi apresentado, em Grizotto e colaboradores, que apresenta para a polpa de ananás concentrada um valor de 39 °Brix (Grizotto et al., 2007). Estes valores obtidos (Tabela 3.3), embora se encontrem ligeiramente abaixo, estão perto das especificações em termos de qualidade para sumos concentrados aseticamente, que estabelecem um valor de teor de sólidos solúveis totais maior ou igual que 60-65 °Brix (Lobo e Paull 2017).

3.1.3 pH

Os quatro concentrados analisados apresentam valores no intervalo de pH entre 3,60 e 3,79 (Tabela 3.4) revelando que todos os concentrados apresentam valores de pH ácidos, apresentando um valor médio de 3,68.

Tabela 3.4 - Valores médios de pH obtidos para os concentrados e desvio padrão (D.P.).

Concentrado	pH $\pm$ D.P.
F121	3,60 $\pm$ 0,01
F122A	3,58 $\pm$ 0,03
AN18/04	3,74 $\pm$ 0,01
AN09/05	3,79 $\pm$ 0,00

Segundo Oyarzabal e colaboradores, o valor de pH para o concentrado de ananás é de 3,6, em Grizotto e colaboradores, para polpa concentrada, de 3,68 e, em Silva e colaboradores, o valor apresentado para a polpa de ananás é de 3,76 (Grizotto et al., 2007; Oyarzabal et al., 2003; Silva et al., 2010). É possível então estabelecer uma relação entre os valores obtidos para os concentrados de ananás analisados e os descritos na literatura, considerando então que estes são valores frequentemente apresentados para a matriz.

3.1.4 ACIDEZ TITULÁVEL

No caso da acidez titulável, expressa em %m/m de ácido cítrico, os concentrados apresentaram valores entre 7,31 e 10,44 (%m/m) (Tabela 3.5), com um valor médio de 9,07% (%m/m).

Tabela 3.5 - Valores médios de acidez titulável, expressa em %m/m de ácido cítrico, obtidos para os concentrados e respetivo desvio padrão (D.P.).

Concentrado	%m/m $\pm$ D.P.
F121	10,0 $\pm$ 0,0
F122A	10,4 $\pm$ 0,1
AN18/04	7,3 $\pm$ 0,2
AN09/05	8,5 $\pm$ 0,3

Dos quatro concentrados em estudo, os concentrados F121 e F122A apresentam valores mais elevados de acidez titulável que os restantes dois concentrados. Estes valores obtidos apresentam-se mais elevados que os encontrados na literatura, sendo um desses exemplos o estudo elaborado por Bhandari e colaboradores, em que é apresentado um valor de 3,35% (%m/m de ácido cítrico) para concentrado de ananás (Bhandari et al., 1997). Outro valor reportado é o apresentado por Oyarzabal e colaboradores, que apresentam um valor de 3,2% (%m/m de ácido cítrico) para o sumo de ananás concentrado (Oyarzabal et al., 2003). Bonilla-Zavaleta e colaboradores, reportam diversos valores de acidez para sumo de ananás concentrado por congelação, variando estes com a temperatura de congelação. São então apresentados valores para sumo concentrado de ananás, concentrado por congelação a -15°C, -20°C, -30°C e -40°C, com os valores de acidez, expressos em percentagem de ácido cítrico, de 1,19%, 1,89%, 2,15% e 2,36%, estando estes valores abaixo dos obtidos (Bonilla-Zavaleta et al., 2006). Este registo de valores de acidez mais elevados em relação aos descritos na literatura pode dever-se ao diferente tipo de processamento que os concentrados foram sujeitos, à adição de ácido ascórbico ou outros compostos com o fim de prolongar o tempo de prateleira, sendo que o conhecimento de propriedades, como a acidez titulável são importantes para a otimização e desenvolvimento de diferentes tipos de processamento uma vez que este é um bom indicador de qualidade do produto (Bonilla-Zavaleta et al., 2006).

3.1.5 TEOR EM PROTEÍNA BRUTA

O teor em proteína bruta foi determinado segundo o método de azoto de Kjeldahl, obtendo-se valores para os quatro concentrados em estudo entre 1,56 e 1,95% em matéria húmida, sendo o seu valor médio de 1,80%, estando os resultados expressos na Tabela 3.6.

Tabela 3.6 - Valores médios de proteína em matéria húmida obtidos para os concentrados e respetivo desvio padrão (D.P.).

Concentrado	%proteína ± D.P.
F121	1,77±0,13
F122A	1,56±0,04
AN18/04	1,91±0,26
AN09/05	1,95±0,03

Segundo o INSA, é apresentado um valor de 0% de proteína para o sumo concentrado de ananás (INSA, 2017c). Um valor de 1,30%, em massa húmida, é reportado para o concentrado congelado de ananás, valor ligeiramente mais reduzido que os obtidos para os concentrados em estudo (USDA, 2016). Estes valores reportados na literatura bem como os obtidos demonstram mais uma vez que a proteína é um composto nutricional existente em baixa quantidade e em certos casos, a sua existência é praticamente nula. Valores baixos referentes ao conteúdo em proteína são também apresentados para o caso de ananás, obtendo-se um valor de 0,54% e no caso do sumo de ananás, 0,36%, corroborando mais uma vez os

resultados obtidos relativamente ao seu baixo conteúdo neste macronutriente (Khalid et al., 2016). O teor em proteína em produtos provenientes do ananás, como o caso do concentrado, é um dos parâmetros nutricionais existentes em quantidades mínimas, sendo o seu conteúdo pouco prejudicial para os processos de degradação. Ainda assim, mesmo quantidades residuais podem participar em reações como o caso da reação de Maillard, que ocorre devido ao uso de temperaturas elevadas, podendo levar a degradação do produto (Nunes and Baptista, 2001).

3.1.6 TEOR EM FÓSFORO

Os concentrados em estudo, foram também analisados quanto ao seu teor em fósforo. Estes, apresentaram valores entre 51 mg/100g e 59 mg/100g de massa húmida, expressos na Tabela 3.7.

Tabela 3.7 - Valores médios de fósforo, expressos em mg de fósforo por 100 g de massa húmida, obtidos para os concentrados e respetivo desvio padrão (D.P.).

Concentrado	mg de fósforo/100g $\pm$ D.P.
F121	56 $\pm$ 3
F122A	59 $\pm$ 3
AN18/04	51 $\pm$ 15
AN09/05	*

*Análise não realizada

Estes valores são mais elevados que outros valores para o conteúdo em fósforo em concentrado de ananás, descritos na literatura com o valor de 28 mg/100g e 30 mg/100g (INSA, 2017c; USDA, 2016). Esta diferença, tal como a reportada para outros parâmetros, pode dever-se ao tipo de processamento e também proveniência do ananás.

3.1.7 COR

O parâmetro de cor L^* , referente à luminosidade, apresenta valores semelhantes entre concentrados e os resultados para cada um destes encontra-se apresentado na Tabela 3.8. O concentrado AN18/04 reporta o valor mais elevado e F122A registou o valor mais baixo, encontrando-se os valores entre 43,52 e 51,88.

Tabela 3.8 - Valores médios da coordenada de cor L^* , obtidos para os concentrados e respetivo desvio padrão (D.P.).

Concentrado	$L^* \pm$ D.P.
F121	47,56 $\pm$ 0,03
F122A	43,52 $\pm$ 0,03
AN18/04	51,88 $\pm$ 0,04
AN09/05	48,15 $\pm$ 0,07

Para puré de ananás, um valor de L de 53,77 é reportado, sendo este valor ligeiramente superior aos valores em estudo (Chutintrasri e Noomhorm 2007). Noutro estudo, um valor de L de 32,84 é reportado para concentrado de ananás *single strength* concentrado por evaporação osmótica, e um valor de 26,10 é também reportado, para concentrado de ananás, a partir de sumo clarificado e concentrado pelo mesmo método (Hongvaleerat et al., 2008). Os valores obtidos para o parâmetro L , são todos mais elevados que estes últimos reportados.

Relativamente à cor dos concentrados, é relevante analisar o ângulo de Hue de forma a compreender se estes apresentam uma cor dentro do comum dos concentrados de ananás. Estes apresentam valores de ângulo de Hue, reportados em Tabela 3.9, situados entre 73,52° e 80,92°, significando que os concentrados apresentam uma cor na gama do amarelo, localizado entre os 60° e os 90°.

Tabela 3.9 - Valores médios do Ângulo de Hue, obtidos para os concentrados e respetivo desvio padrão (D.P.).

Concentrado	Ângulo de Hue
F121	77,68
F122A	73,52
AN18/04	80,92
AN09/05	75,08

A cor característica que se define para o concentrado de sumo de ananás assético é uma cor entre o amarelo claro e o âmbar dourado, com ausência de cor verde ou cinzenta, sendo que a cor apresentada pelos concentrados um pouco mais escura (Lobo e Paull 2017).

3.1.8 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Os compostos fenólicos totais foram avaliados segundo o método de Folin – Ciocalteu, obtendo-se valores entre 585 mg EAG/kg e 714 mg EAG/kg, sendo que os resultados para cada um dos concentrados se encontra reportado na Tabela 3.10. Os concentrados que apresentam o maior teor de compostos fenólicos totais são o AN09/05 e F121 e o com o menor valor observado foi AN18/04.

Tabela 3.10 - Valores médios de compostos fenólicos totais, expressos em mg equivalentes de ácido gálico por kg, obtidos para os concentrados e respetivo desvio padrão (D.P.).

Concentrado	mg EAG/kg $\pm$ D.P.
F121	714 $\pm$ 1
F122A	692 $\pm$ 14
AN18/04	585 $\pm$ 8
AN09/05	714 $\pm$ 29

O ananás contém vários compostos fenólicos, como os ácidos *p*-coumárico, ferúlico, cafeico, sinápico, *p*-hidroxibenzóico e *p*-hidroxibenzóico aldeído, que, tal como o ácido ascórbico,

contribuem para o potencial antioxidante deste fruto (Lobo and Paull, 2017). Valores para conteúdo em compostos fenólicos totais de 102 mg/L e 112 mg/L são reportados para concentrado de ananás a partir de sumo *single strength* e sumo clarificado, respetivamente, sendo mais baixos que os apresentados para os concentrados em estudo (Hongvaleerat et al., 2008). Estes valores mais baixos podem dever-se ao processo de concentração utilizado, uma vez que pode ter implicações nas características do sumo, havendo uma diminuição destes em certos processos ou resultando da incorporação de aditivos, aumentando o seu conteúdo (Wen and Wrolstad, 2002).

3.1.9 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante, através do método de sequestro do DPPH, foi avaliada em cada um dos concentrados. Estes, apresentaram valores entre 0,12 e 0,22 mg de equivalentes de ácido ascórbico por mL (Tabela 3.11).

Tabela 3.11 - Valores médios de atividade antioxidante, expressos em mg equivalentes de ácido ascórbico por mL, obtidos para os concentrados e respetivo desvio padrão (D.P.).

Concentrado	mg de Eq de ácido ascórbico/mL $\pm$ D.P.
F121	0,22 $\pm$ 0,01
F122A	0,12 $\pm$ 0,00
AN18/04	0,14 $\pm$ 0,00
AN09/05	0,12 $\pm$ 0,01

Observando os valores reportados na Tabela 3.11, o concentrado que registou maior atividade antioxidante, foi o F121, seguido de AN18/04 e por fim, F122A e AN09/05, com igual valor.

3.1.10 TEOR EM ÁCIDO ASCÓRBICO

O teor em ácido ascórbico, vitamina C, é avaliado em mg de ácido ascórbico por 100 g, obtendo-se valores entre 56 e 225 mg de ácido ascórbico/100g, entre os quatro concentrados apresentados. Os valores para cada um dos concentrados encontram-se apresentados na Tabela 3.12.

Tabela 3.12 - Valores médios de ácido ascórbico, expressos em mg de ácido ascórbico por 100 g, obtidos para os concentrados e respetivo desvio padrão (D.P.).

Concentrado	mg ácido ascórbico/100 g $\pm$ D.P.
F121	155 $\pm$ 9
F122A	126 $\pm$ 5
AN18/04	225 $\pm$ 7
AN09/05	56 $\pm$ 3

Valores semelhantes foram descritos para o conteúdo em ácido ascórbico em sumos concentrados de ananás, como o caso de 42 mg de ácido ascórbico por 100 g e 240 mg de ácido ascórbico por 100 g (INSA, 2017c; USDA, 2016) que se encontram no intervalo de valores obtidos e expressos na Tabela 3.12. Esta variação de valores para o conteúdo de ácido ascórbico podem relacionar-se com as diferentes características da matriz a partir do qual se obtém o concentrado uma vez que este conteúdo depende da variedade de ananás, temperatura do ar e exposição ao sol (Lobo and Paull, 2017) .

3.1.11 ATIVIDADE DA PPO

Após uma análise inicial da atividade da enzima polifenoloxidase, não se observou atividade em nenhum dos quatro concentrados em estudo.

3.2 EVOLUÇÃO DOS CONCENTRADOS AO LONGO DO TEMPO

Os diferentes concentrados de ananás foram objeto de diversas análises, ao longo de 4 semanas, e o efeito das condições de refrigeração (4°C) foi avaliado ao longo do tempo. Existiu ainda a possibilidade de avaliar os parâmetros seguidamente descritos, até 8 semanas para alguns concentrados, permitindo assim obter mais alguns resultados, no entanto não serão apresentados neste estudo. Os parâmetros selecionados para análise durante este ensaio foram o pH, acidez titulável, teor em ácido ascórbico, atividade da enzima PPO, cor (L, ΔE , índice de escurecimento e ângulo de Hue), compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. O interesse em analisar estes parâmetros, reside no fato de serem parâmetros que podem alterar facilmente consoante as condições de processamento e armazenamento, e que permitem avaliar a intensidade das alterações observadas nos sumos e concentrados, do ponto de vista da sua qualidade organoléptica, nutritiva e funcional.

3.2.1 pH

A nível do pH, verificou-se que este não sofreu grandes alterações ao longo do tempo em todos os concentrados analisados. Todos os concentrados apresentaram valores de pH abaixo de 4 demonstrando que estes são de carácter ácido. Os valores observados e a evolução do pH ao longo das 4 semanas do estudo, estão representados na Figura 3.1. De entre os quatro concentrados analisados, o concentrado AN18/04 apresentou valores de pH ligeiramente mais elevados que os restantes. Os valores de pH situam-se num intervalo de valores médios de 3,6 a 3,8.

Após análise estatística, verificou-se que não existem diferenças significativas nos valores de pH ao longo tempo ($p > 0,05$), demonstrando que a refrigeração não é um motor de alterações deste parâmetro. Quando realizada esta análise para compreender a relação do pH entre os diferentes concentrados, verificou-se que há diferenças significativas entre estes ($p < 0,05$), devido às diferentes características dos concentrados, e estas podem traduzir-se em diferentes valores de pH. Assim sendo, o concentrado AN18/04 foi o que apresentou maior

valor, seguindo-se do concentrado AN09/05, sendo que os concentrados F121 e F122A apresentaram valores de pH muito semelhantes.

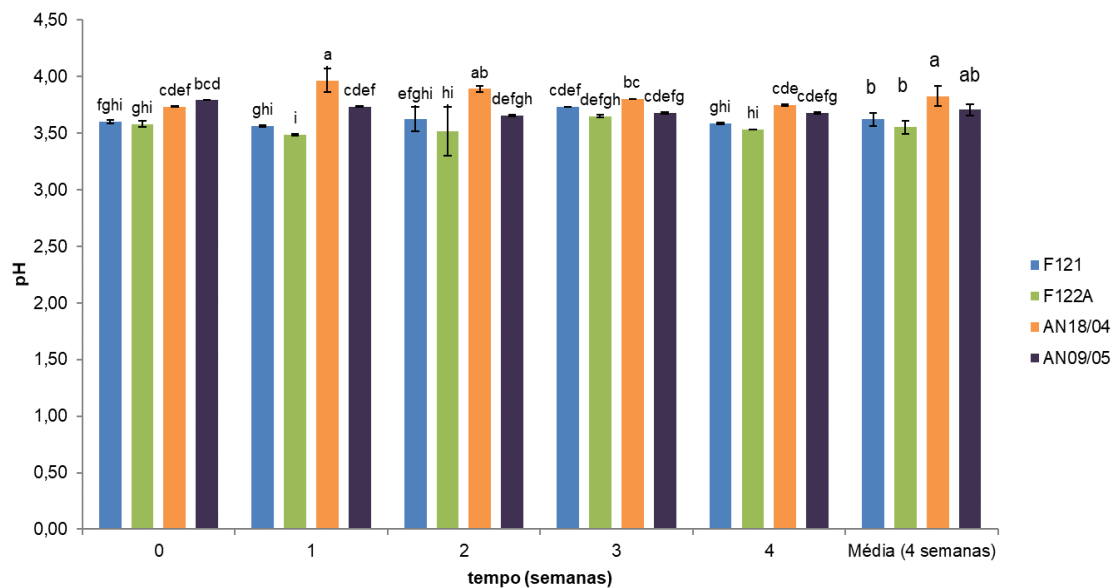


Figura 3.1 - Variação do pH ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C).
a-i: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes concentrados ($p < 0,05$).

Um estudo com uma outra matriz, concentrado de pêssago, foi realizado sob igual temperatura de armazenamento que este ensaio (4°C) durante 112 dias, onde se verificou que o pH não foi alterado ao longo de todo o ensaio (Buedo et al., 2001). Este comportamento é também observado nos quatro concentrados em estudo (figura 3.1), não havendo uma variação relevante dos valores de pH.

Valores de pH muito baixos ($pH < 4,5$), tornam o produto menos suscetível a contaminação microbológica pois maior parte dos microrganismos não tem a capacidade de resistir sob estas condições, sendo que as condições de refrigeração aplicadas também se tornam vantajosas para que não haja a contaminação microbológica (Lima Tribst et al., 2009).

3.2.2 ACIDEZ TITULÁVEL

Relativamente à acidez titulável, comportamentos semelhantes são observados para os diferentes concentrados, como é observável na Figura 3.2. Para os concentrados F121 e F122A, foram registados valores mais elevados, que rondam os 10 % (m/m), e para o concentrado AN18/04 valores de 7% e para AN09/05, valores de 8%. No entanto, todos os concentrados não apresentaram variação significativa ao longo do tempo quanto à acidez titulável.

Ao analisar por tratamento estatístico, verificou-se que, a acidez titulável ao longo do tempo, não apresenta diferenças significativas ($p > 0,05$), mas há diferenças entre concentrados ($p < 0,05$).

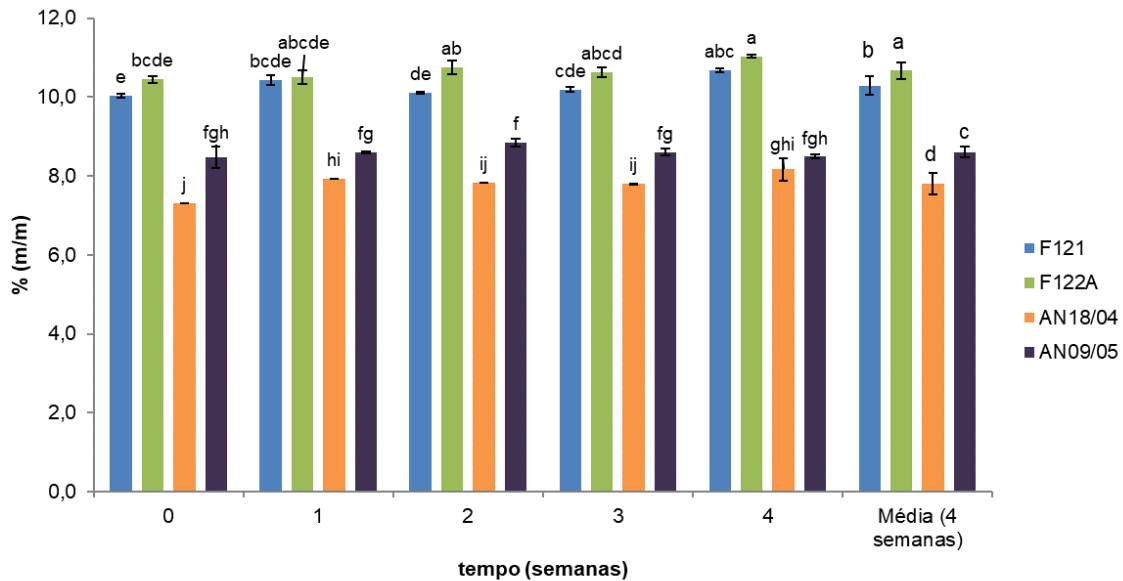


Figura 3.2 - Variação da acidez ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C). a-j: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes concentrados ($p < 0,05$).

Buedo e colaboradores, avaliando o concentrado de pêssago ao longo do armazenamento (a 15, 30 e 37°C e durante 112 dias), reportam que quanto à acidez titulável se verifica um ligeiro aumento ao longo do tempo, observando-se os valores mais elevados para este parâmetro, no fim do tempo de armazenamento (Buedo et al., 2001). Este aumento pode dever-se à redução de aminoácidos em solução por envolvimento em reações de Maillard (Buedo et al., 2001). No entanto, no estudo de Buedo e colaboradores, este aumento foi mais significativo às temperaturas de 30 e 37°C, pois o aumento de temperatura é um fator catalizador da Reação de Maillard. No estudo efectuado com a polpa de ananás, uma vez que a temperatura de armazenamento é reduzida, 4°C, a reação de Maillard não é promovida. Por este motivo não se observaram diferenças significativas ao longo do tempo na acidez titulável das polpas.

Observando os valores de pH obtidos juntamente com os de acidez, é possível estabelecer uma relação entre valores de pH para os concentrados com valores mais elevados e valores de acidez correspondentes mais baixos.

3.2.3 ÁCIDO ASCÓRBICO

Nos quatro concentrados em estudo, os valores de ácido ascórbico foram distintos. O concentrado que apresentou menor conteúdo no tempo 0 foi o AN09/05, no entanto, foi o concentrado em que os valores de ácido ascórbico se mantiveram ao longo do tempo. Os restantes concentrados, demonstraram oscilações em ácido ascórbico nas 2 primeiras semanas e, após esse tempo, o seu conteúdo demonstrou um grande decréscimo. O decréscimo no conteúdo em ácido ascórbico nos concentrados apresenta em média um valor de cerca de 64%. Estes resultados podem ser observados na Figura 3.3.

No total das 4 semanas de estudo e observando o valor médio para os diferentes concentrados, o que apresentou maior valor de ácido ascórbico foi o F121, seguido de

AN18/04, F122A e por fim AN09/05, sendo todos os concentrados em estudo estatisticamente diferentes.

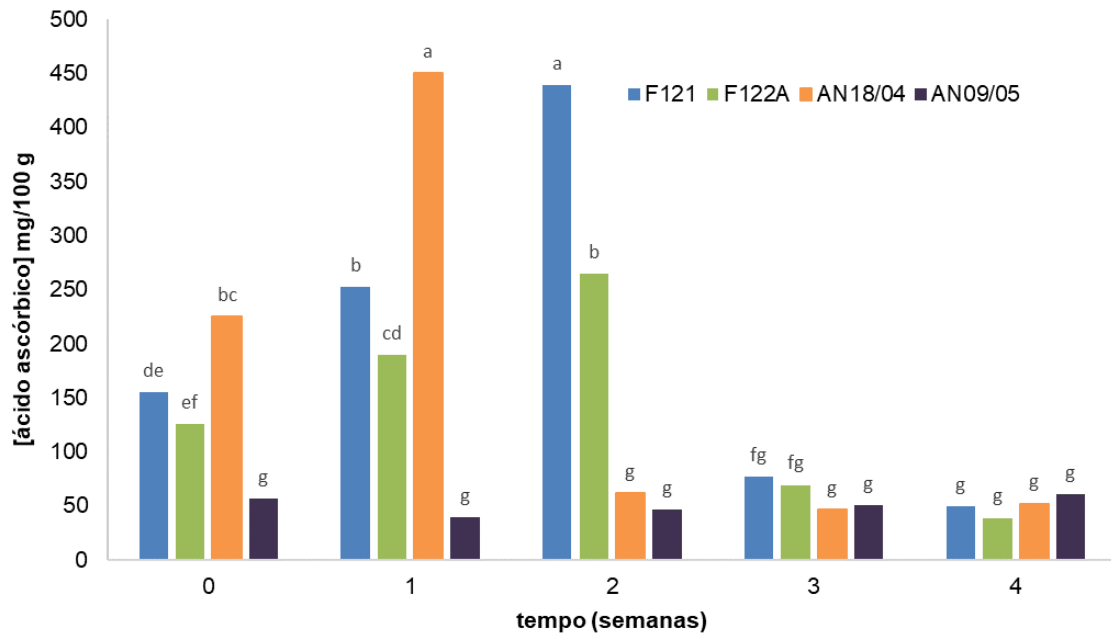


Figura 3.3 - Variação da concentração de ácido ascórbico, em mg/100 g, ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C). a-g: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes concentrados ($p < 0,05$).

Em Choi e colaboradores, o sumo de toranja armazenado a 4,5°C durante 7 semanas, sofreu uma perda quase de 50% ao fim de 3 semanas de armazenamento (Choi et al., 2002). Este comportamento é semelhante a alguns dos concentrados apresentados na figura 3.3, que na 3ª semana de ensaio registaram um decréscimo bastante acentuado no seu conteúdo em ácido ascórbico. A redução do ácido ascórbico ao longo do tempo pode dever-se a este iniciar a sua própria via de degradação oxidativa, podendo o oxigénio existente na embalagem ser utilizado como catalisador (Costa, 2015).

3.2.4 ATIVIDADE DA PPO

Para todos os concentrados nos diferentes tempos de ensaio, não se verificou a presença de atividade da enzima polifenoloxidase, significando que a polpa tinha sido processada de forma a que a enzima tivesse sido inativada e não ocorreu regeneração ao longo do tempo.

3.2.5 COR

3.2.5.1 COORDENADA DE COR L^*

A coordenada de cor L , obtida através da medição da cor, indica a luminosidade da amostra, sendo que quanto mais elevado for o valor do parâmetro, mais clara é a amostra e quando estudada ao longo do tempo, é mais um dos parâmetros que permite indicar se existiu algum tipo de escurecimento. Na Figura 3.4 está apresentado o comportamento do parâmetro

L para os quatro concentrados ao longo das 4 semanas de ensaio, tendo sido estes mantidos em câmara de refrigeração (4°C), bem como também estão representados os valores médios apresentados para cada concentrado individualmente. Ao longo das 4 semanas, observa-se que os valores de L em todos os concentrados não apresentaram grande variação. Assim, o parâmetro de cor referente à luminosidade, não apresentou uma redução notável, o que pode ser um indicador de que não existiu um escurecimento acentuado dos concentrados durante o seu armazenamento ao longo das 4 semanas. Verifica-se então, após tratamento estatístico, que não existem diferenças significativas ao longo do tempo para os concentrados em estudo, reforçando que a temperatura de armazenamento é um bom veículo de manutenção deste parâmetro. Verifica-se também que existem diferenças entre todos concentrados em estudo, sendo o concentrado AN18/04 que apresentou um valor de L mais elevado, seguido de AN09/05, F121 e F122A.

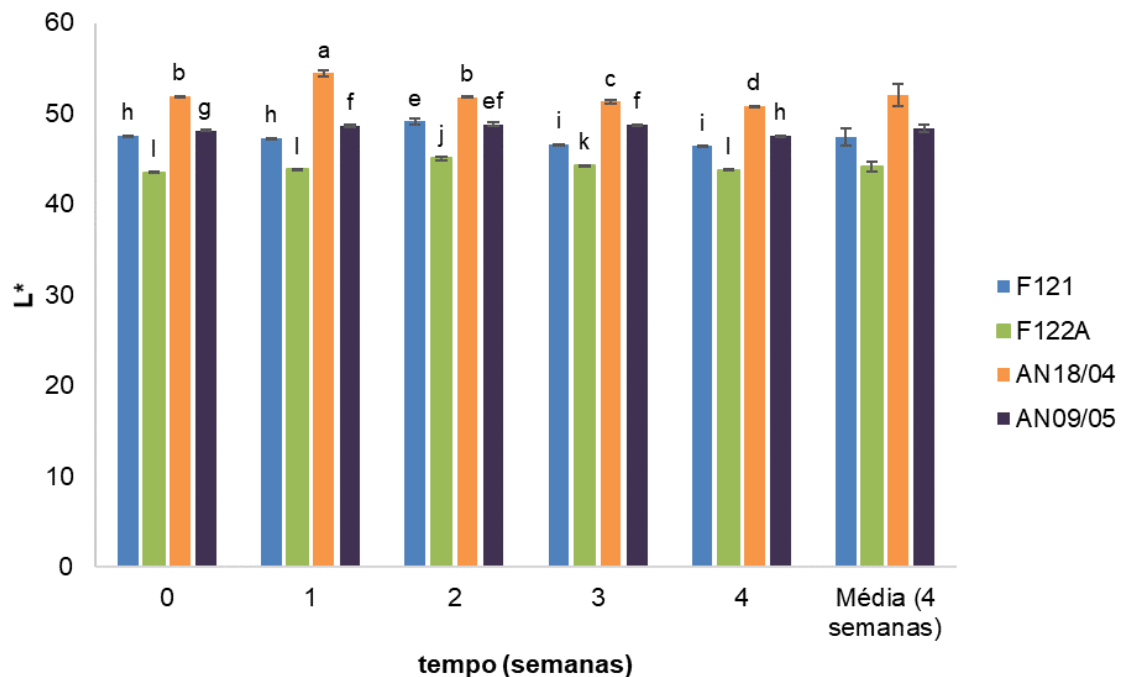


Figura 3.4 - Variação do parâmetro de cor L^* , ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C). a-k: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes concentrados ($p < 0,05$).

O parâmetro L num estudo realizado por Bodelón e colaboradores em puré de morango em armazenamento a 5°C , demonstrou comportamento semelhante, não havendo uma variação muito grande deste. Assim, há uma ligeira diminuição do parâmetro que define a luminosidade, porém não é suficientemente significativo para afirmar que existiu uma grande variação (Bodelón et al., 2013). Este comportamento verificado nesta coordenada de cor, é semelhante ao verificado na Figura 3.4, em que também não houve uma variação significativa do parâmetro de cor.

3.2.5.2 VARIAÇÃO DA COR (ΔE)

Relativamente ao parâmetro calculado para a variação de cor (ΔE), os resultados estão expressos na Figura 3.5. Tendencialmente, e apesar de se verificarem oscilações ao longo do tempo, verifica-se que há uma variação de cor ao longo de 4 semanas. Esta variação de cor existe, mas por não ser muito acentuada, não é visível a olho nu. Ainda assim, após realizado tratamento estatístico, observa-se que entre os tempos de ensaio e concentrados não existem diferenças significativas.

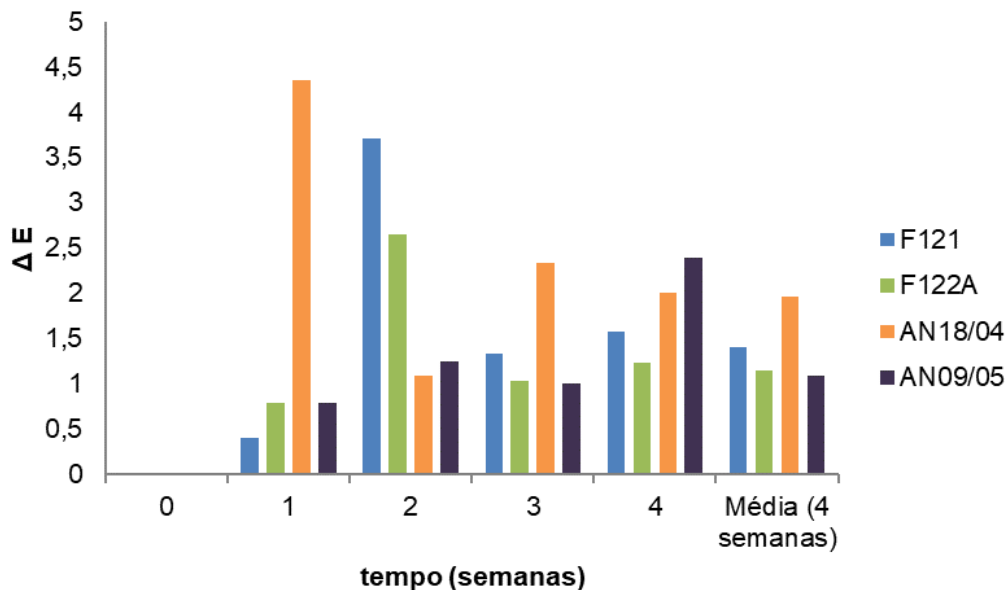


Figura 3.5 - Variação da cor (ΔE). ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C).

Contrariamente ao observado neste ensaio, Choi e colaboradores, reportam que para o sumo de toranja armazenado a $4,5^{\circ}\text{C}$ durante 7 semanas, este regista um aumento da variação total da cor, podendo a temperatura ser um fator que influencie esta alteração do parâmetro (Choi et al., 2002). O comportamento observado na figura 3.5 demonstra então que não existem grandes variações de cor, não havendo alterações muito notórias nos parâmetros de cor, no tempo de estudo (4 semanas). O aumento ligeiro de ΔE ao longo do tempo (que não teve significado estatístico) pode dever-se a fenómenos de oxidação do ácido ascórbico, que originam o escurecimento de sumos e concentrados (Costa, 2015).

3.2.5.3 ÍNDICE DE ESCURECIMENTO

Relativamente ao índice de escurecimento, este permite obter a indicação do grau de escurecimento dos concentrados ao longo do tempo e estão representados na Figura 3.6. Os concentrados F121 e AN18/04 demonstraram um índice de escurecimento mais elevado, havendo uma maior variação deste parâmetro no total das 4 semanas. O concentrado AN09/05 não mostrou alterações durante as 4 semanas. O concentrado que apresentou o menor valor

de índice de escurecimento em relação aos concentrados em estudo foi o F122A sendo estatisticamente semelhante ao concentrado AN09/05.

Após análise estatística observa-se também, que não existem diferenças neste índice ao longo do tempo, demonstrando que no tempo de estudo (4 semanas) não houve variação deste parâmetro.

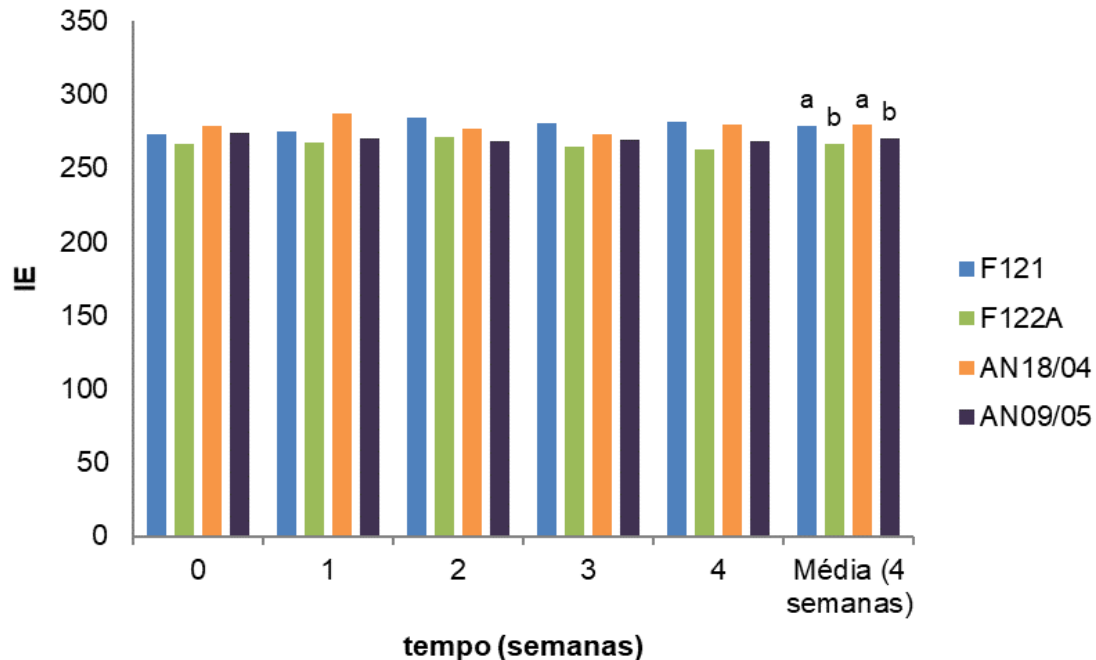


Figura 3.6 - Variação do índice de escurecimento, ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C).

Num estudo realizado com concentrado de laranja sujeito a um armazenamento a 4°C durante 19 semanas, o concentrado não demonstrou uma alteração significativa de escurecimento, havendo uma ligeira variação de valores ao longo do tempo (Lee e Chen 1998). Este comportamento é semelhante ao verificado na Figura 3.6, em que se não se observa uma variação ao longo do tempo de armazenamento, embora este seja mais curto do que o ensaiado no estudo referido.

3.2.5.4 ÂNGULO DE HUE

O ângulo de Hue permite localizar a cor dos concentrados e ter a percepção caso tenham havido algumas alterações de cor nos concentrados ao longo do tempo e o efeito da refrigeração neste parâmetro. Esta evolução está apresentada na Figura 3.7, em que os valores médios para o ângulo de Hue dos diferentes concentrados se localizam entre 71,88 (para o concentrado F122A) e 79,41 (para AN18/04), indicando que todos os concentrados se situam em termos de cor dentro da gama de cor do amarelo. Observando os resultados para os concentrados, em função do tempo, ao longo das 4 semanas, é possível observar que não existiu alteração significativa entre eles.

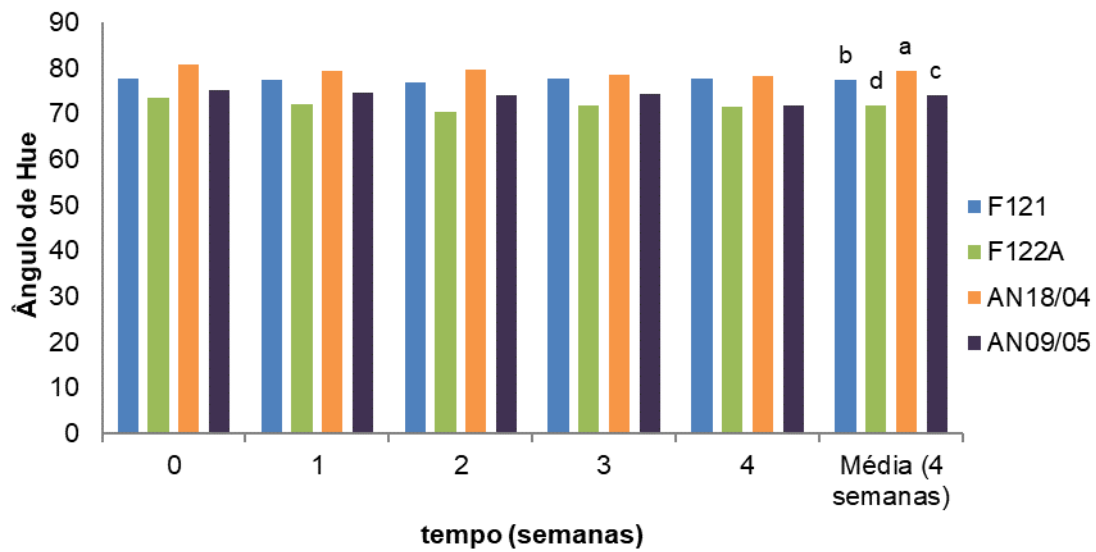


Figura 3.7 - Variação do ângulo de Hue, ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C). a-d: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os valores médios das 4 semanas entre diferentes concentrados ($p < 0,05$).

Num estudo em que se avaliou o efeito do armazenamento de puré de morango ao longo de 6 meses, a 5°C, verificou-se um comportamento semelhante aos obtidos neste ensaio, em que os valores do ângulo de Hue sofreram apenas uma ligeira diminuição, mantendo-se a cor do produto ao longo de todo o tempo de armazenamento (Bodelón et al., 2013).

A utilização de temperatura de refrigeração (4°C), demonstra não ter efeitos prejudiciais na cor dos concentrados de ananás em estudo, promovendo a manutenção da cor dos produtos por algum tempo.

3.2.6 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

O conteúdo em compostos fenólicos totais, apresentado em mg de equivalentes de ácido gálico por kg, foi também avaliado ao longo das 4 semanas. Ao observar a Figura 3.8, é possível afirmar que o conteúdo em fenóis não sofreu uma grande alteração ao longo do tempo. Há, no entanto, uma tendência para o aumento dos compostos fenólicos ao longo do tempo, mas sem significado estatístico. O concentrado com maior valor médio de compostos fenólicos, foi o F121, seguido do F122A, AN09/05 e AN18/04.

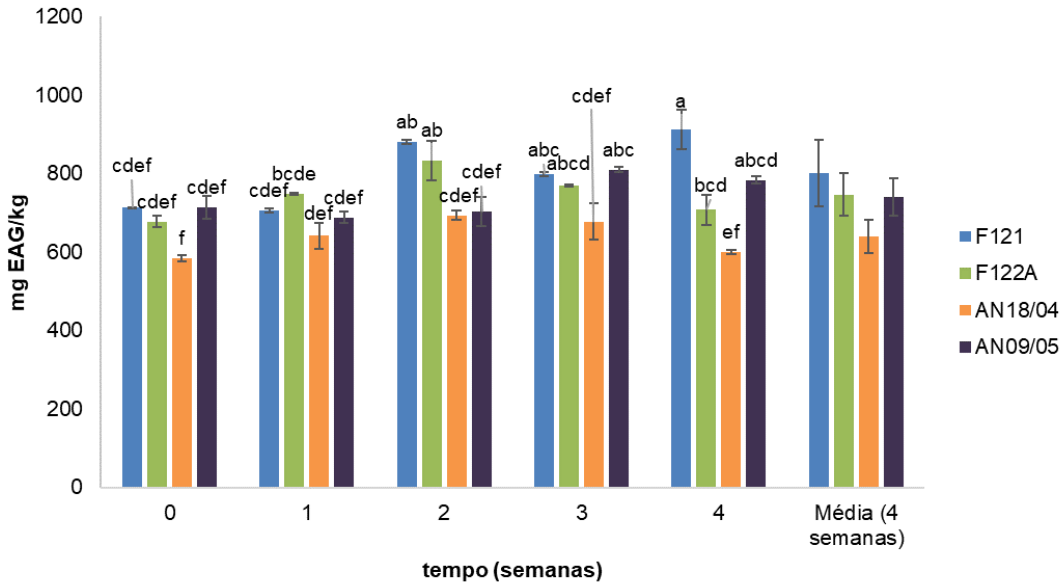


Figura 3.8 - Variação dos compostos fenólicos totais, em mg de ácido gálico por kg, ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C). a-f: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes concentrados ($p < 0,05$).

Um estudo em que se avaliou o efeito da refrigeração (4°C) no armazenamento, durante 29 dias, de 6 sumos (groselha, romã, cereja, morango, mirtilo e arando), o conteúdo em compostos fenólicos foi analisado, verificando que no fim do ensaio, o conteúdo em compostos fenólicos aumentou (Piljac-Žegarac et al., 2009). Este comportamento é semelhante ao registado pelos concentrados de ananás em estudo, em que se verificou esta tendência para o aumento dos compostos fenólicos ao longo das 4 semanas. Este aumento do conteúdo em compostos fenólicos totais, pode residir no fato de durante o armazenamento outros compostos se tenham formado, reagindo com o reagente de Folin-Ciocalteu e contribuindo para este aumento, devido a este não ser específico para compostos fenólicos, podendo ser reduzido, por exemplo, por aminas aromáticas, iões metálicos e ácido ascórbico (Magalhães et al., 2008; Piljac-Žegarac et al., 2009).

3.2.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante, avaliada através do método do sequestro do DPPH, foi também analisada neste ensaio, como se observa na Figura 3.9. Apesar dos valores não figurarem num intervalo muito elevado, observam-se diferenças entre os concentrados em estudo. Verifica-se que o concentrado F121 regista uma atividade antioxidante mais elevada, em comparação com os restantes concentrados. Apesar de existirem variações ao longo das 4 semanas de ensaio, em termos médios, o concentrado que regista uma menor atividade antioxidante é AN09/05. Ao longo das quatro semanas, verifica-se um decréscimo médio para os quatro concentrados em estudo de cerca de 12%.

O concentrado F121 apresenta uma diminuição da sua atividade antioxidante ao longo das 4 semanas (a qual é estatisticamente significativa), enquanto os restantes concentrados mantêm a sua atividade antioxidante relativamente constante ao longo do tempo. Analisando estatisticamente estes concentrados ao longo do tempo, observa-se que não existem diferenças significativas entre os diferentes tempos de ensaio.

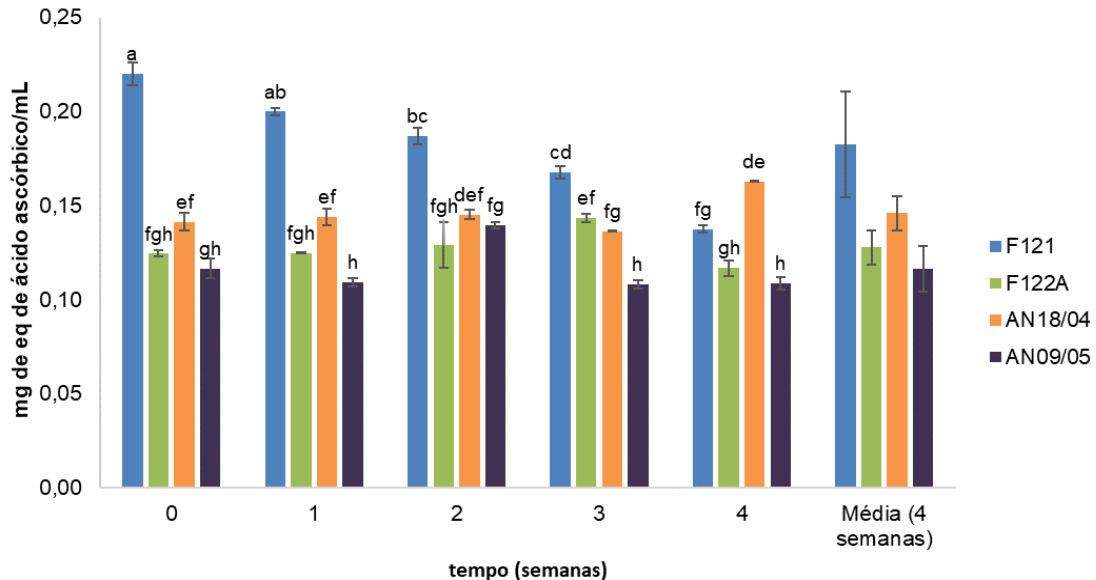


Figura 3.9 - Variação da atividade antioxidante, em mg de equivalentes de ácido ascórbico ao longo do tempo, para os diferentes concentrados, em refrigeração (4°C). a-h: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes concentrados ($p < 0,05$).

Keenan e colaboradores, num estudo realizado em smoothies de fruta, onde se avaliou a capacidade antioxidante destes ao longo de 30 dias de armazenamento a 4°C, resultou numa diminuição na atividade antioxidante total (Keenan et al., 2010). Este comportamento é semelhante ao reportado na figura 3.9, em que se observa uma ligeira diminuição da atividade capacidade antioxidante nos 4 concentrados em estudo, embora essa diminuição só tenha significado estatístico para o concentrado F121. O oxigénio presente no *headspace* dos frascos onde o concentrado está armazenado, pode se ter difundido neste, formando espécie radicais que irão oxidar os compostos antioxidantes, promovendo uma degradação da atividade antioxidante, consequentemente afetando a qualidade dos sumos (Zerdin et al., 2003).

Após análise de todos os parâmetros em estudo para este ensaio, observa-se que não existiram alterações significativas em maior parte dos parâmetros. Verifica-se apenas uma diminuição no conteúdo em ácido ascórbico e da atividade antioxidante, sendo possível afirmar que o armazenamento em refrigeração a 4°C tem um efeito positivo na manutenção da maioria dos parâmetros característicos da qualidade dos concentrados de ananás.

3.3 APLICAÇÃO DE DIFERENTES PASTEURIZAÇÕES E AVALIAÇÃO AO LONGO DO TEMPO

Nesta fase de ensaios, diferentes tratamentos térmicos e tempos de tratamento foram aplicados. Os sumos depois de preparados a partir dos diferentes lotes, foram depositados em frascos de plástico, com cerca de 80 ml de sumo, sujeitos aos diferentes tratamentos térmicos e armazenados em estufa a 37°C durante 28 dias, onde semanalmente foram retirados frascos para análise. A temperatura da estufa, a 37°C, permite simular condições de armazenamento propícias à degradação dos sumos. Neste ensaio, os sumos foram analisados quanto ao pH, acidez titulável, teor em ácido ascórbico, teor de sólidos solúveis totais, atividade da enzima PPO, cor (L, ΔE , índice de escurecimento e ângulo de Hue), compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, sendo a sua avaliação pertinente face a possíveis alterações que os binómios tempo/temperatura possam causar nos sumos.

3.3.1 pH

Os sumos efetuados a partir dos concentrados, foram avaliados acerca da influência dos diferentes tratamentos térmicos aplicados e a duração dos mesmos no pH ao longo dos 28 dias. Verificou-se então que o tratamento térmico não influenciou o pH, independentemente da temperatura aplicada bem como a duração do tratamento aplicado. O pH, tanto nos sumos sem pasteurização como nos sumos pasteurizados, não sofreu alterações notórias ao longo do tempo do ensaio, sendo observável na Figura 3.10. É então possível afirmar que a temperatura e tempo de duração do tratamento aplicado não tem influência sobre este parâmetro, permitindo manter este parâmetro constante ao longo do tempo do ensaio, não se verificando diferenças significativas entre eles.

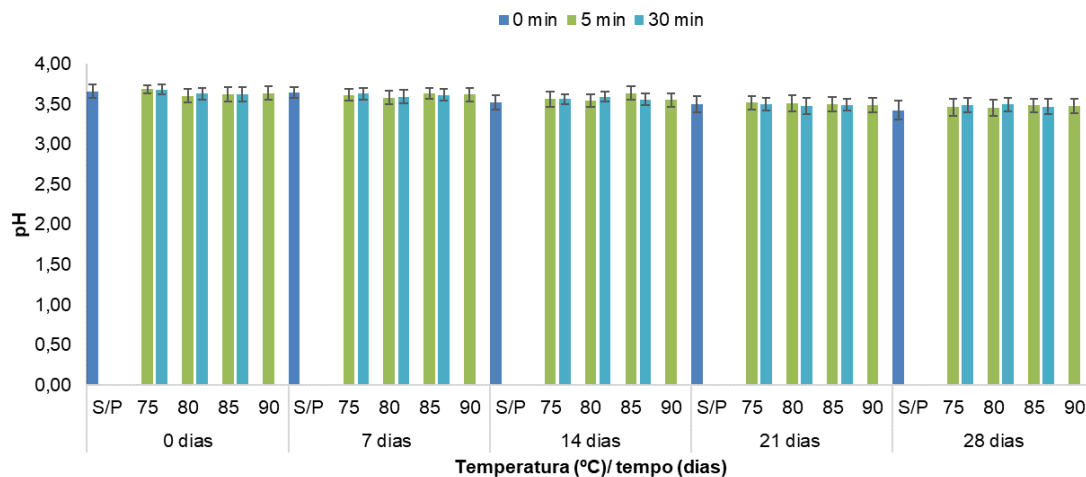


Figura 3.10 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento no pH dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias.

Uma manutenção dos valores de pH ao longo do tempo em armazenamento à temperatura ambiente, é reportado por Akinyele e colaboradores, que procederam à pasteurização de sumo de ananás a 99°C durante 17 minutos, armazenando-o durante 3

meses (Akinyele et al., 1990). Observa-se então, um comportamento semelhante neste ensaio uma vez que não se verificaram alterações nos valores de pH dos sumos em estudo, independentemente do tratamento térmico aplicado e o tempo de armazenamento.

Outros estudos descritos na literatura demonstram comportamento semelhante ao observado, ao nível do pH, para o qual não se verificou uma diferença significativa no sumo de ananás ao longo do tempo de armazenamento, sendo consistentes com Chia et al., onde não se verificaram alterações no pH em sumo de ananás pasteurizado termicamente a 80°C durante 10 minutos e armazenado posteriormente a 4°C durante 13 semanas (Chia et al., 2012). Rivas et al. referem também que não se verificou nenhuma alteração no pH de sumos de cenoura e laranja pasteurizados termicamente e armazenados em refrigeração a 2°C e 12°C (Rivas et al., 2006), bem como em Yeom et al., onde não se verificaram variações significativas em sumo de laranja pasteurizado, durante o seu armazenamento a 4 e 22°C (Yeom et al., 2000). Quanto à influência da temperatura de armazenamento utilizada neste ensaio (37°C), Ewaidah observa um comportamento semelhante a nível de pH, para sumos de ananás enlatados, a partir de concentrados e armazenados a 42°C durante 12 meses, em que apesar de as diferenças nos valores de pH não serem muito elevadas, se observa um ligeira diminuição ao longo do tempo (Ewaidah, 1992).

3.3.2 ACIDEZ TITULÁVEL

A acidez titulável, expressa em % m/m de ácido cítrico, analisou-se neste ensaio e os resultados são observáveis na figura 3.11.

O sumo onde se verificou um maior teor de acidez, imediatamente após o tratamento térmico, foi o sumo no qual foi aplicada uma temperatura de 85°C por 30 minutos. No entanto, nos restantes tempos de ensaio em que os sumos foram analisados, este sumo registou um valor de acidez semelhante aos restantes, verificando-se assim um decréscimo do tempo 0 para o tempo 7 do teor de acidez. Verifica-se um ligeiro aumento de acidez na maior parte dos sumos pasteurizados durante 30 minutos em relação aos tratamentos sujeitos às diferentes temperaturas durante apenas 5 minutos, que se verifica ao longo dos 28 dias de ensaio. No sumo no qual não foi aplicado nenhum tratamento térmico, observa-se um comportamento semelhante aos sumos nos quais foram aplicadas diferentes temperaturas durante 5 minutos. Este superior aumento da acidez com a aplicação de um tratamento térmico mais demorado pode ter contribuído para a concentração de sólidos dissolvidos totais, o que foi reflectido no ligeiro aumento observado em °Brix.

Após tratamento estatístico, observa-se que não existem diferenças significativas entre tempo de armazenamento, temperatura e tempo de pasteurização.

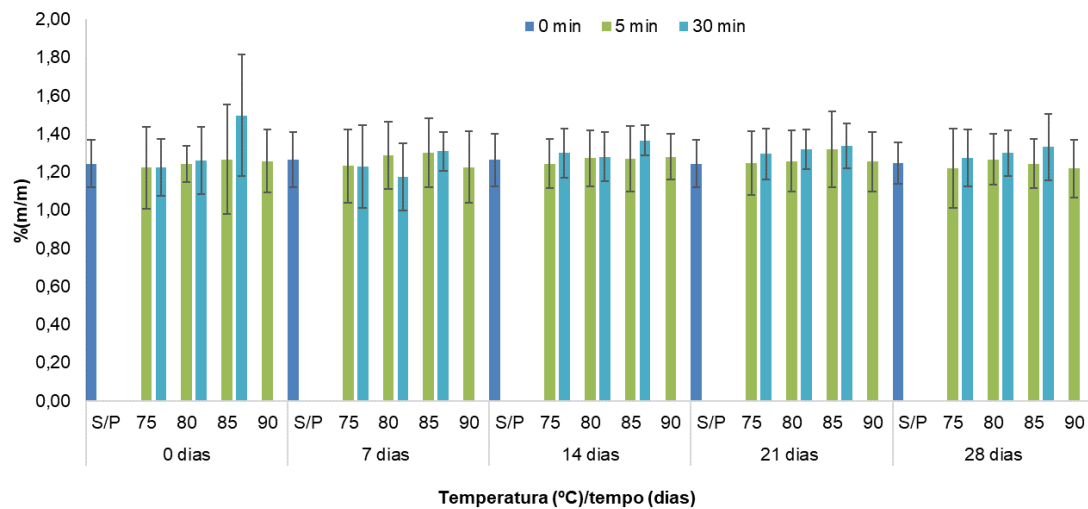


Figura 3.11 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento na acidez dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias.

Na literatura, valores de acidez titulável são descritos entre 0,34% a 2,0% (m/m) de ácido cítrico, para sumo de ananás elaborado a partir de ananás fresco (Beveridge, 2002). Estes valores são concordantes com os valores obtidos neste ensaio, uma vez que os valores de acidez titulável se situam entre este intervalo apresentado, demonstrando que o sumo de ananás é um sumo de características ácidas. Ewaidah, em estudo realizado com sumo de ananás enlatado elaborado a partir de concentrado em armazenamento ao longo de 12 meses, a uma temperatura de 42°C, verifica que apesar de não existirem grandes alterações nos sumos ao nível da acidez, há uma ligeira diminuição deste parâmetro, demonstrando que a temperatura de armazenamento e o tempo de armazenamento pode não ser um fator determinante para a degradação deste parâmetro na qualidade do sumo (Ewaidah, 1992).

3.3.3 ÁCIDO ASCÓRBICO

O ananás apresenta um elevado conteúdo em ácido ascórbico, o que torna a sua avaliação, neste ensaio, um parâmetro bastante relevante. Relativamente ao conteúdo em ácido ascórbico, a sua variação ao longo do tempo encontra-se representada na figura 3.12. Em todos os sumos se observou uma tendência para a diminuição no conteúdo em ácido ascórbico do dia 0 de ensaio para o dia 7. Os sumos que verificaram uma diminuição mais notória deste parâmetro, foram os sumos nos quais não foi aplicado nenhum tipo de tratamento térmico. Todos os sumos em que foi aplicado tratamento térmico, independentemente da temperatura ou tempo de pasteurização, sofreram uma redução no seu conteúdo em ácido ascórbico. Esta perda de ácido ascórbico traduz-se num decréscimo médio de 55%. Após o dia 7 de armazenamento, o conteúdo em ácido ascórbico manteve-se relativamente constante em todos os sumos, até ao fim do ensaio, não se verificando diferenças significativas entre os valores resultantes da avaliação do teor de ácido ascórbico.

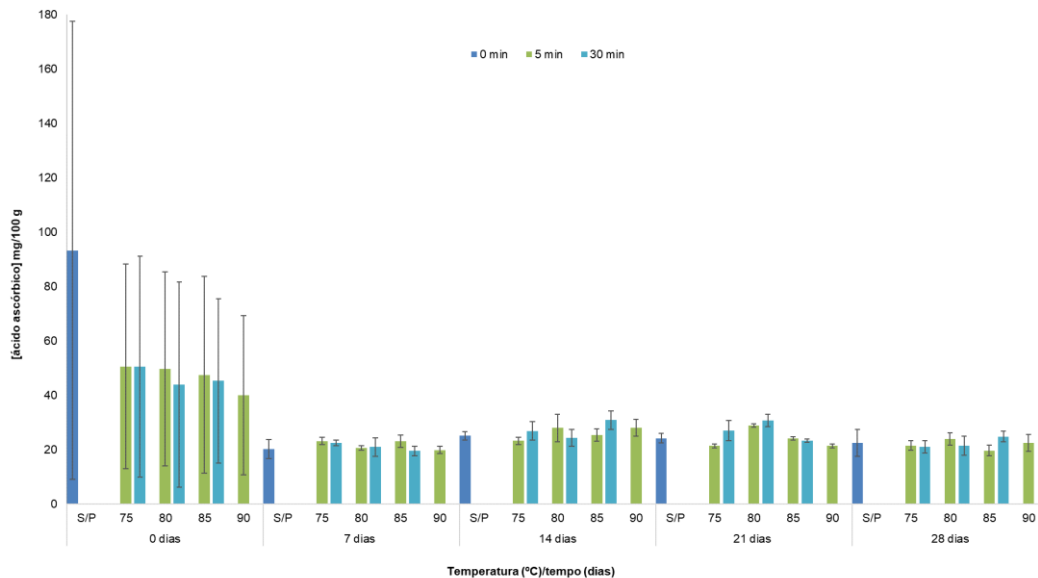


Figura 3.12 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento no conteúdo em ácido ascórbico (mg/100 g) dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias.

Goh e colaboradores, aplicaram um tratamento térmico de 97°C durante 5 minutos em sumo de ananás, verificando que este diminuiu o seu conteúdo em ácido ascórbico em relação a um sumo sem tratamento, demonstrando que a aplicação do tratamento térmico tem efeito sobre este parâmetro, tal como observado neste ensaio (Goh et al., 2012). Outros autores reportam que após pasteurização a 90°C durante 3 minutos, leva a uma perda entre 28 a 46% do conteúdo em ácido ascórbico no sumo de ananás, uma vez que é expectável que o ácido ascórbico durante o seu processamento e armazenamento diminua, pois pode ser facilmente oxidado a ácido desidroascórbico (Achinewhu e Hart 1994).

Relativamente à temperatura de armazenamento, Ewaidah reporta um comportamento semelhante em sumos de ananás enlatados, feitos a partir de concentrado, os quais foram objeto de estudo ao longo de 12 meses, a temperaturas de armazenamento de 5, 24, 33 e 42°C, sendo esta última próxima da utilizada neste ensaio (37°C) (Ewaidah, 1992). Este estudo, demonstra que o conteúdo em ácido ascórbico diminuiu ao longo do tempo de armazenamento, verificando-se que quanto mais alta a temperatura de armazenamento, maior a perda de ácido ascórbico (vitamina C) (Ewaidah, 1992), devido à oxidação do mesmo a ácido desidroascórbico. Entre tratamentos térmicos e a duração do tratamento não se verificaram diferenças significativas.

3.3.4 COR

A cor avaliou-se em diversos parâmetros de forma a compreender possíveis alterações que os diversos tratamentos térmicos e respetivos tempos de tratamento aplicados possam ter nesta característica dos sumos.

3.3.4.1 COORDENADA DE COR L

A coordenada de cor L , é um dos parâmetros relevantes para este ensaio, uma vez que permite compreender se os sumos foram afetados ao nível da luminosidade e se existiu algum decréscimo em relação ao seu valor inicial (tempo 0 de ensaio). O comportamento deste parâmetro pode ser verificado na Figura 3.13.

Para este parâmetro, não se observaram grandes alterações nos sumos sujeitos a tratamento térmico em relação aos sumos em que não foi aplicado nenhum tratamento térmico, não havendo diferenças estatisticamente significativas. O sumo em que se verificou menor valor deste parâmetro, no tempo 0, foi aquele em que a temperatura de 85°C por 30 minutos foi aplicada. No entanto, tal como nos restantes sumos, observou-se um ligeiro decréscimo ao longo dos 28 dias, o que se comprova por análise estatística.

Apesar desta diminuição não ser muito visível, é possível afirmar que o parâmetro L é afetado pelo tratamento térmico, que com o aumento de temperatura e tempo de pasteurização, leva a uma diminuição do parâmetro L , tornando o sumo ligeiramente mais escuro (Rattanathanalerk et al., 2005).

Comportamento semelhante é reportado em sumos de laranja e cenoura, pasteurizados a 98°C durante 21 segundos e armazenados a 12°C durante 8,5 semanas, apresentam também uma diminuição no parâmetro L ao longo do tempo de armazenamento (Rivas et al., 2006).

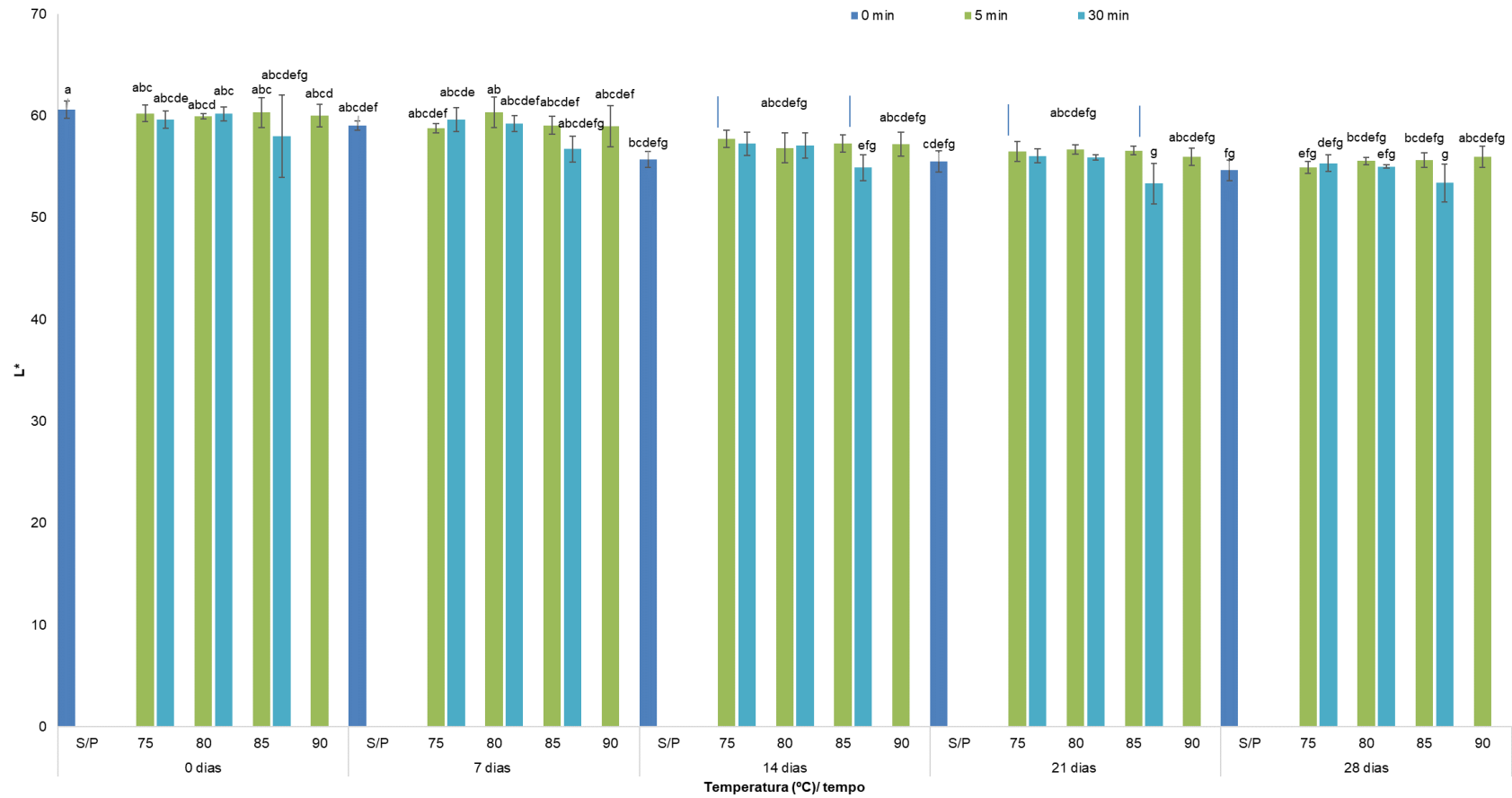


Figura 3.13 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento no parâmetro de cor L^* , dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias.

a-g: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes sumos ($p < 0,05$).

3.3.4.2 VARIAÇÃO DA COR (ΔE)

A variação de cor (ΔE) foi também um dos parâmetros analisados de modo a compreender as possíveis alterações de cor nos sumos após aplicação de diferentes tratamentos e tempos de tratamento. No geral, e como se pode observar pela Figura 3.14, todos os sumos registaram uma variação da cor ao longo dos 28 dias. Laorko et al., reportam comportamento semelhante em sumos de ananás armazenados a 37°C durante 6 meses, verificando um aumento da variação da cor total, tendo o tempo e temperatura influência neste parâmetro (Laorko et al., 2013). Esta variação de cor ao longo do tempo está relacionada com os processos de oxidação decorrentes do tempo de armazenamento.

Como se verifica logo no tempo 0 de ensaio, há uma mudança na variação da cor quando se compara os sumos com tratamento térmico em relação ao sumo sem pasteurização, indicando que o tratamento térmico tem implicação na variação da cor. Verifica-se então uma tendência para uma variação de cor com o aumento de temperatura de pasteurização aplicada, tal como descrito por Rattanathanalerk et al., que descreve que este parâmetro aumenta significativamente a temperaturas mais altas e com maior duração do tempo de tratamento (Rattanathanalerk et al., 2005). Esta maior diferença observada no tempo 0 entre sumos sem pasteurização e pasteurizados deve-se ao tratamento térmico aplicado que favorece a ocorrência da reação de Maillard e o escurecimento dos sumos.

Ao se observar os restantes tempos de ensaio, verifica-se que não existem grandes diferenças entre sumos com e sem tratamento térmico, principalmente aos 21 e 28 dias de ensaio, onde os valores são bastante semelhantes. Através de tratamento estatístico, verifica-se que as diferentes temperaturas e tempos de pasteurização não têm influência significativa na variação da cor dos sumos, ao fim de 28 dias.

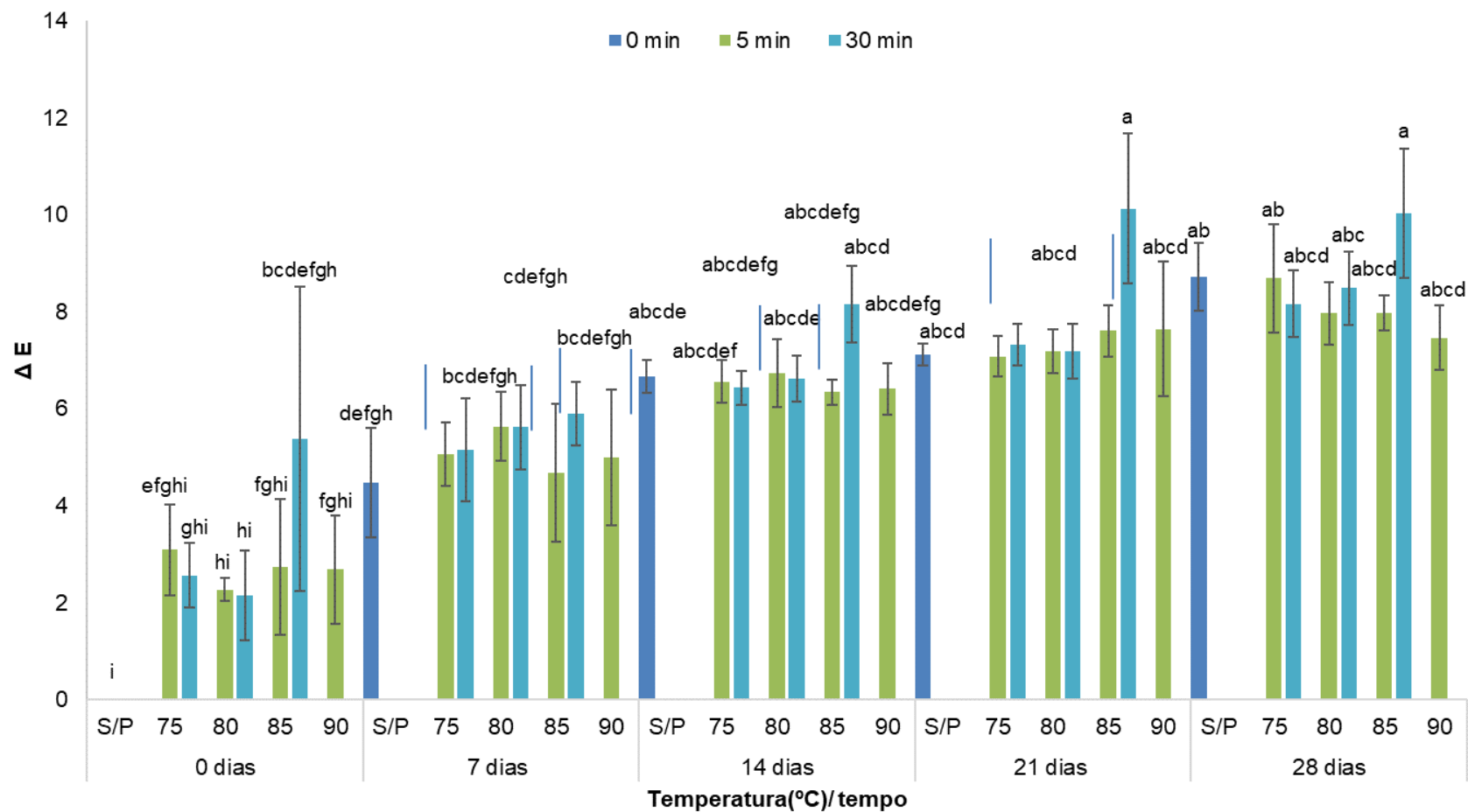


Figura 3.14 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento na variação da cor (ΔE), dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias. a-i: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes sumos ($p < 0,05$).

3.3.4.3 ÍNDICE DE ESCURECIMENTO

O efeito do tratamento térmico e tempo de tratamento térmico no índice de escurecimento (IE) dos sumos, observa-se na figura 3.15. Ao longo dos 28 dias de ensaio, não se verificam alterações de valores de índice de escurecimento, mantendo-se este relativamente constante em todos os sumos em estudo, comprovado por análise estatística. O sumo para o qual se observa um maior índice de escurecimento ao fim de 28 dias, é aquele em que uma temperatura de 85°C foi aplicada durante 30 minutos. O sumo no qual não se aplicou nenhum tratamento térmico também registou valores de índice de escurecimento ligeiramente mais elevados em relação aos restantes tratamentos aplicados. Porém, após tratamento estatístico, observa-se que entre as diferentes temperaturas de pasteurização utilizadas não existem diferenças estatisticamente significativas. O mesmo acontece entre sumos pasteurizados e não pasteurizados. O tempo de armazenamento não provoca alterações no escurecimento dos sumos como se pode visualizar na figura 3.15.

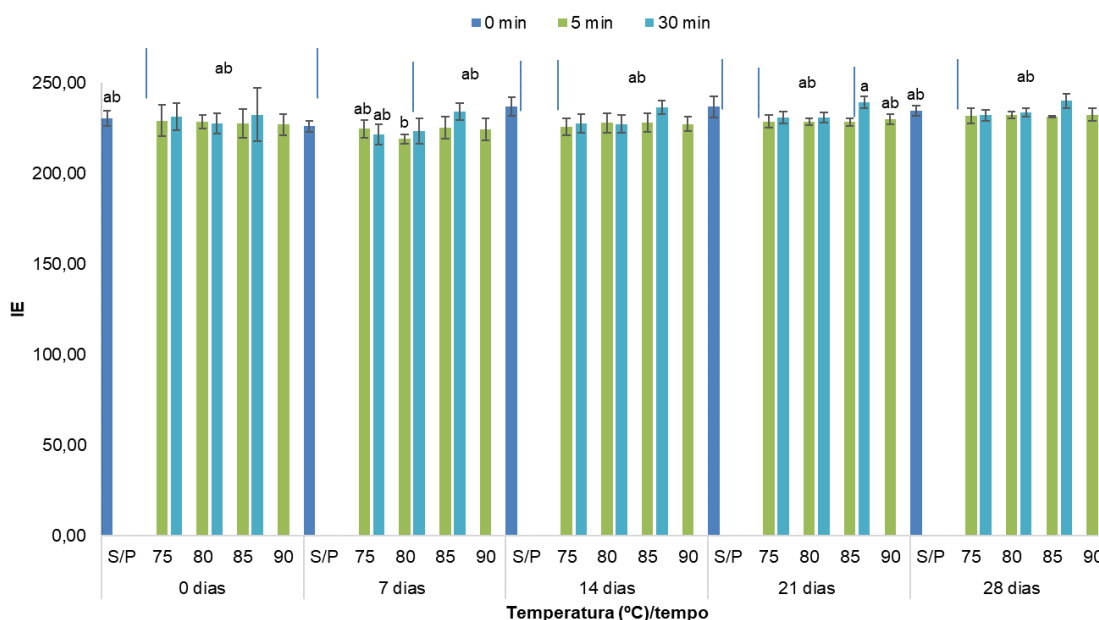


Figura 3.15 - Efeito do tratameto térmico e duração do tratamento no índice de escurecimento, dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias. a-b: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes sumos ($p < 0,05$).

O índice de escurecimento foi também objeto de estudo de Laorko e colaboradores, em que reportam que este parâmetro é afetado pelo tempo e temperatura de armazenamento, havendo um aumento (Laorko et al., 2013). Estes resultados não estão em concordância com os resultados obtidos no presente estudo pois estes últimos não revelam ser afetados pelo tempo e temperatura de armazenamento.

3.3.4.4 ÂNGULO DE HUE

O ângulo de Hue permite ter noção da cor dos sumos, sendo mais um parâmetro para avaliar a qualidade dos sumos. Os dados relativos ao Ângulo de Hue neste ensaio estão representados na figura 3.16, onde se observa que este não registou uma variação significativa ao longo do tempo. Verifica-se que o ângulo de Hue tem tendência a diminuir ao longo do tempo de ensaio, embora com uma diminuição pouco significativa para todos os sumos em estudo, sendo essa alteração mais visível a partir dos 21 dias até ao fim do ensaio. Demonstra-se assim, que o tratamento térmico e o tempo de tratamento aplicados nos sumos provocaram efeitos pouco negativos na cor do sumo, não tendo influência estatisticamente significativa nos sumos do presente estudo.

A diminuição do ângulo de Hue é também verificado ao longo do tempo, para sumo de laranja e cenoura pasteurizado a 98°C durante 21 segundos, que após armazenamento a 12°C durante 8 semanas e meia, apresentou uma ligeira diminuição no seu valor (Rivas et al., 2006). Esta diminuição pode estar relacionada com o tempo e temperatura de armazenamento utilizadas neste estudo (12°C, durante 8,5 semanas), uma vez que após tratamento, os autores reportam um ligeiro aumento do ângulo de Hue para os sumos pasteurizados (Rivas et al., 2006).

Os sumos de ananás em estudo permaneceram a uma temperatura de armazenamento de 37°C, indicando que este poderá ter sido o promotor da diminuição de valores resultantes para o ângulo de Hue, pelos fenómenos de oxidação já reportados.

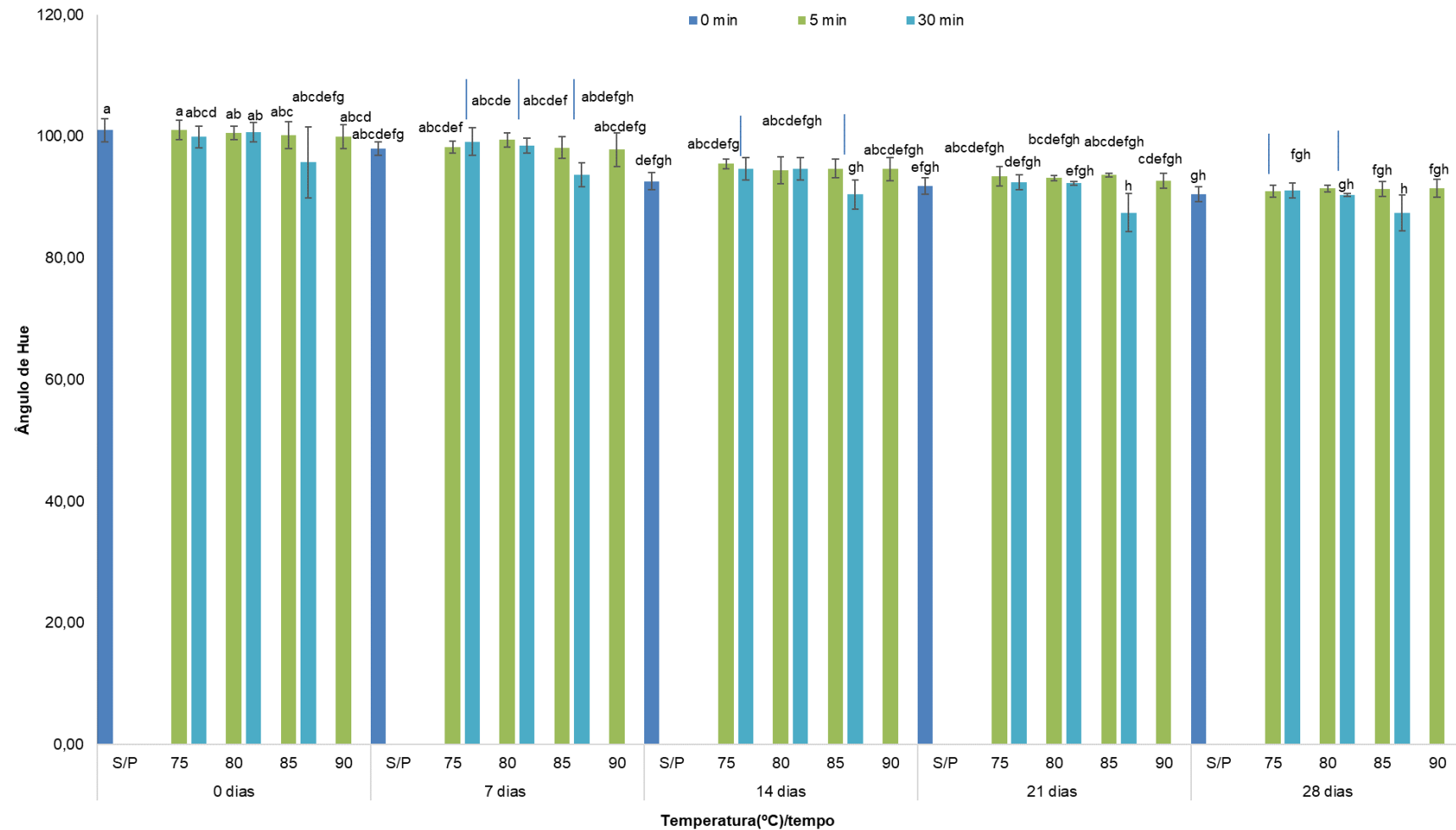


Figura 3.16 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento no Ângulo de Hue, dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias.

a-h: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes sumos ($p < 0,05$).

3.3.5 ATIVIDADE DA ENZIMA PPO

A atividade da enzima polifenoloxidase foi analisada, no entanto, não foi detetada atividade em nenhum dos sumos preparados e pasteurizados.

3.3.6 TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS (°BRIX)

O teor de sólidos solúveis totais, expressos em °Brix, foi também motivo de análise ao longo deste ensaio, de forma a compreender o efeito do tratamento térmico e a duração de tempo do mesmo nos sumos de ananás. Pelo que se observa na figura 3.17, o teor de sólidos solúveis totais não tem grandes alterações ao longo do tempo de ensaio (28 dias), embora se verifique uma tendência para um ligeiro aumento com o tempo de conservação. O sumo que demonstra um maior valor de °Brix ao longo de todo o ensaio, é aquele em que um tratamento de 85°C foi aplicado durante 30 minutos. Este valor ligeiramente mais elevado em teor de sólidos solúveis totais pode dever-se a durante o tratamento térmico ter ocorrido perda de água, originando fenómenos de concentração. Ao serem tratados estatisticamente os resultados, verifica-se que nenhum dos parâmetros (tempo de armazenamento, temperaturas e tempo de pasteurização) têm influência significativa no conteúdo em sólidos solúveis totais.

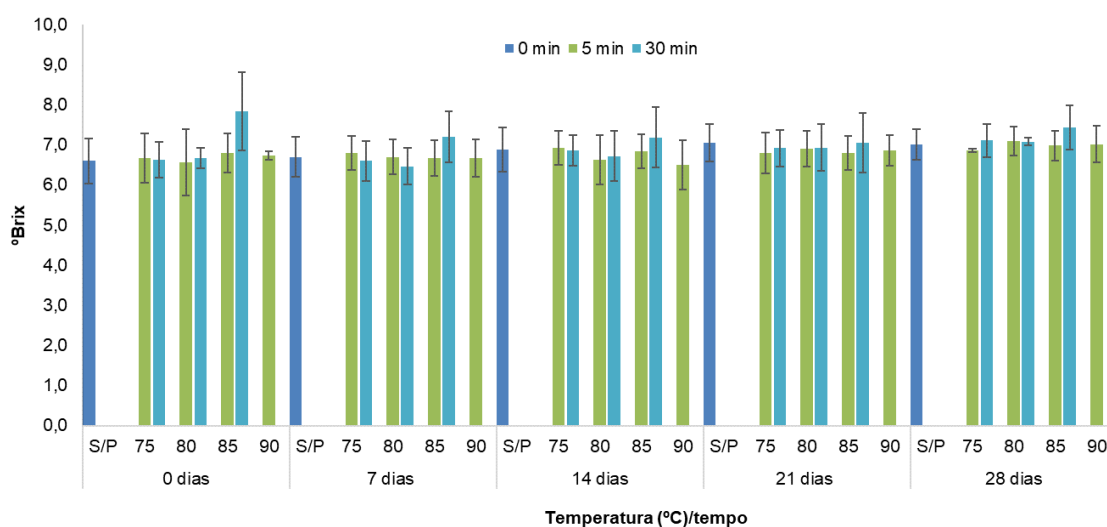


Figura 3.17 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento no teor de sólidos solúveis totais (°Brix), dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias.

Na literatura, um intervalo de valores de teor de sólidos solúveis totais entre 9 a 20 °Brix é descrito para sumo de ananás a partir de ananás fresco (Beveridge, 2002). Os valores obtidos encontram-se ligeiramente abaixo do intervalo reportado, sendo um dos fatores que pode influenciar essa diferença, a variedade de ananás utilizado para produção do sumo (Beveridge, 2002).

3.3.7 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

O conteúdo em compostos fenólicos totais foi também objeto de estudo neste ensaio, observando-se a sua variação na figura 3.18.

O conteúdo em compostos fenólicos revela semelhança em todos os sumos analisados, apresentando uma diminuição entre o tempo de ensaio 7 e 21 dias. No entanto, não existem diferenças estatisticamente significativas entre tempos e temperaturas de pasteurização aplicadas. Durante o tempo de armazenamento, verificam-se alterações no conteúdo em compostos fenólicos, havendo variações ao longo do tempo de ensaio, mas esta variação não teve significado estatístico.

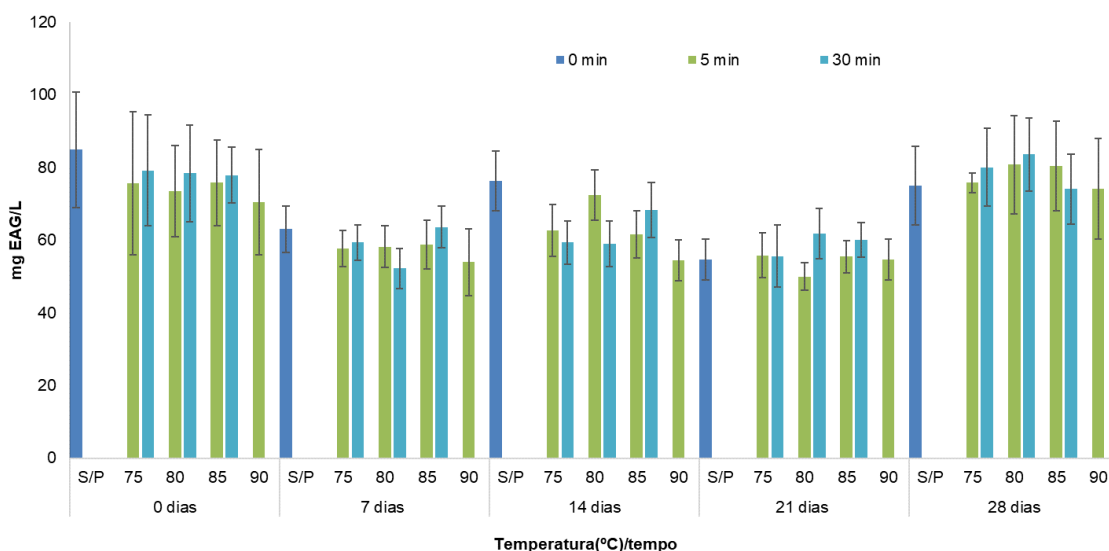


Figura 3.18 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento no conteúdo em compostos fenólicos (mg EAG/L), dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias.

O conteúdo em compostos fenólicos não é portanto afetado pelo tratamento térmico, tal como também é demonstrado por Goh e colaboradores, que reportam semelhante comportamento em sumos de ananás tratado termicamente (97°C durante 5 min) quando comparado com um sumo sem tratamento (Goh et al., 2012). Pelo contrário, Laorko e colaboradores verificam uma diminuição de compostos fenólicos totais para o sumo de ananás armazenado a 37°C durante 6 meses, sugerindo que pode ocorrer oxidação dos polifenóis e reações de polimerização, reduzindo o número de grupos hidroxilo livres, medido pelo método de Folin-Ciocalteu, indicando que o tempo e temperatura de armazenamento têm influência nessa perda (Laorko et al., 2013). No tempo de 4 semanas, no estudo apresentado com a polpa de ananás, não se verificou essa diminuição. O prolongamento do armazenamento durante 6 meses poderia dar resultados semelhantes aos apresentados por Laorko et al. (2013) (Laorko et al., 2013).

3.3.8 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A variação da atividade antioxidante nos sumos de ananás sujeitos a diferentes tempos e temperaturas de pasteurização foi avaliada ao longo dos 28 dias em que o ensaio decorreu, observando-se na figura 3.19.

Comparando o sumo sem pasteurização com os restantes sumos, não se verificam diferenças significativas. Registam-se valores de atividade antioxidante mais elevados no tempo 0, havendo uma diminuição desse tempo de ensaio para o tempo 7, mantendo-se o valor semelhante até ao fim do tempo de ensaio, comprovado por análise estatística. O decréscimo médio da atividade antioxidante apresenta um valor de cerca de 54%. No fim do tempo de ensaio, os sumos com maior atividade antioxidante foram aqueles sujeitos a pasteurização a 75°C (5 minutos ou 30 minutos). O tratamento estatístico revela que não existem diferenças significativas entre tempos e temperaturas de pasteurização utilizados, embora aos 28 dias, se verifique a tendência de se observar mais atividade antioxidante nos sumos que não foram processados termicamente ou que sofreram uma temperatura de pasteurização inferior.

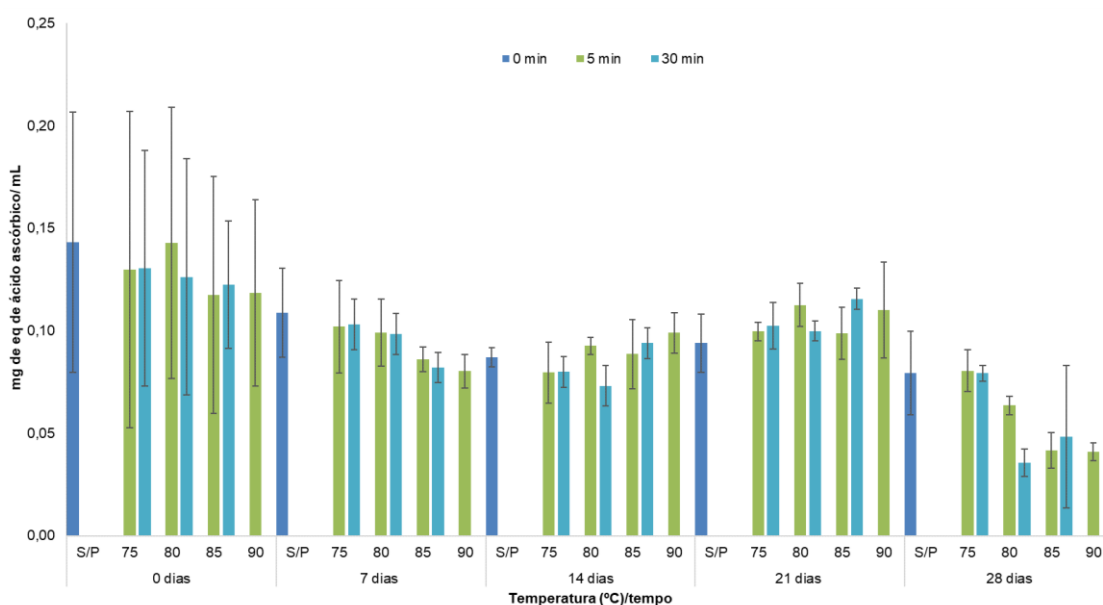


Figura 3.19 - Efeito do tratamento térmico e duração do tratamento na atividade antioxidante (mg eq de ácido ascórbico/mL), dos sumos de ananás, ao longo de 28 dias

A diminuição da capacidade antioxidante ao longo do tempo de armazenamento e a uma temperatura de armazenamento de 37°C em sumos de ananás é também reportada por Laorko e colaboradores, observando que estes dois parâmetros têm influência na atividade antioxidante (Laorko et al., 2013). Esta diminuição está também relacionada com a perda de ácido ascórbico, antioxidante presente naturalmente nos sumos, tendo o seu conteúdo também sofrido um decréscimo (Figura 3.19).

Ao realizar uma análise geral ao comportamento dos sumos sujeitos a diferentes tratamentos térmicos e mantidos em armazenamento a 37°C, observa-se que a maioria dos parâmetros em estudo não sofreram alterações durante o mesmo. No entanto, alguns parâmetros foram afetados, traduzindo-se numa diminuição do conteúdo em ácido ascórbico e da atividade antioxidante, bem como uma maior variação de cor, que se verifica principalmente logo como resultado da aplicação dos diferentes binómios tempo/temperatura nos sumos de ananás.

3.4 APLICAÇÃO DE BIOFILMES DE QUITOSANO COM INCORPORAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO

Os filmes de quitosano com incorporação de ácido ascórbico foram elaborados e cortados em pedaços de 2,5 x 2,5 cm² e introduzidos nos sumos (80 mL) após estes serem pasteurizados. A pasteurização a 75°C durante 5 minutos, foi a selecionada, dentro do ensaio realizado anteriormente, pois foi a pasteurização que permitiu simultaneamente apresentar menor variação de cor (ΔE), e maior teor em actividade antioxidante ao fim de 28 dias. Os sumos depois de elaborados (a partir de diferentes lotes), e após a adição dos filmes de quitosano, foram armazenados em estufa a 37°C de forma a simular condições que favoreçam uma degradação mais acelerada dos sumos. A introdução dos filmes de quitosano e ácido ascórbico, teve como objetivo a possibilidade de preservar as atividades antioxidantes dos sumos, tentando evitar a degradação dos sumos que pode comprometer a qualidade do produto final. Ao longo do tempo de ensaio, observou-se a dissolução do filme de quitosano nos sumos de ananás em que este foi introduzido, seja com ou sem ácido ascórbico. Atendendo à natureza hidrofílica do quitosano, esta dissolução era expectável. Por outro lado, sendo o quitosano um polissacárido comestível e autorizado, esta dissolução não é causa de perigo para a segurança alimentar. Não foi objeto de análise, mas seria interessante avaliar, em termos sensoriais, se esta dissolução teria efeitos no sabor e aroma dos sumos. Os parâmetros selecionados para análise durante este ensaio foram o pH, acidez titulável, teor em ácido ascórbico, teor de sólidos solúveis totais, atividade da enzima PPO, cor (L, ΔE , índice de escurecimento e ângulo de Hue), compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. Estes parâmetros permitem indicar, pela sua variação, a influência do tratamento aplicado (introdução de filmes de quitosano contendo ácido ascórbico e pasteurização) e do tempo de armazenamento, permitindo avaliar a qualidade dos sumos.

3.4.1 pH

O pH foi avaliado ao longo dos 28 dias de ensaio e, no geral, apresentou poucas alterações como demonstra a Figura 3.20. No tempo inicial, isto é, após aplicação dos filmes de quitosano, sem e com incorporação de diferentes concentrações de ácido ascórbico, os sumos apresentam valores de pH muito semelhantes, e nos tempos de leitura seguintes é que se verificam alterações, não sendo estatisticamente significativas. Os sumos em que foi colocado apenas filme de quitosano, sem adição de ácido ascórbico, apresentam um valor de

pH ligeiramente superior aos restantes, tanto nos sumos sem tratamento térmico, como nos sumos em que foi aplicado 75°C durante 5 minutos, a partir dos 14 dias de ensaio. O comportamento observado, demonstra que o tratamento térmico aplicado não tem uma influência determinante nos sumos de ananás em estudo. É de realçar que não existem diferenças estatisticamente significativas, no que toca à adição de filmes de quitosano bem como as diferentes concentrações de ácido ascórbico.

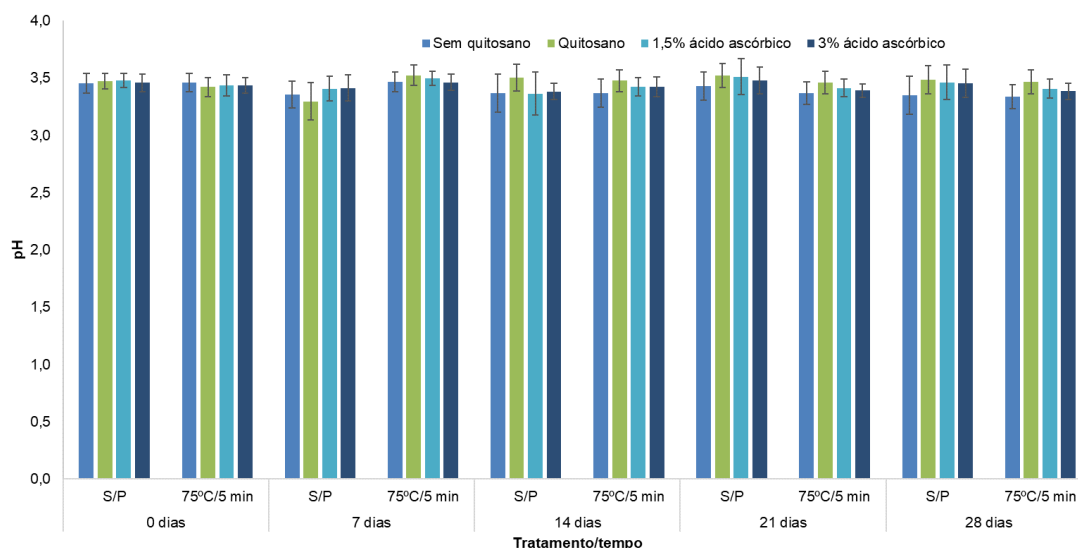


Figura 3.20 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, na variação do pH, ao longo de 28 dias.

O aumento do pH observado nos sumos em que foi adicionado o filme de quitosano é concordante com Martín-Diana e colaboradores, que observaram comportamento semelhante no pH de sumo de laranja ao qual foi adicionado quitosano em diferentes concentrações, verificando um aumento deste parâmetro com o aumento da concentração de quitosano (Martín-Diana et al., 2009). Este fenómeno deve-se à capacidade do quitosano em reduzir a acidez dos sumos de fruta, devido à sua capacidade de ligação a ácidos (Imeri and Knorr, 1988; Martín-Diana et al., 2009).

3.4.2 ACIDEZ TITULÁVEL

Os valores de acidez titulável estão demonstrados na Figura 3.21, observando-se que não existiram grandes alterações ao longo do tempo.

Ao longo de todo o ensaio, são verificados valores de acidez mais elevados nos sumos onde a aplicação de filmes de quitosano com incorporação de ácido ascórbico foi utilizada, o que é verificado também por análise estatística, revelando diferenças significativas. Os sumos com aplicação de filmes de quitosano com incorporação de 3% de ácido ascórbico, registaram os valores mais elevados de acidez, seguidos dos sumos com filme de quitosano com 1,5% de ácido ascórbico. Os sumos em que foram introduzidos filmes só de quitosano registam valores mais elevados que os sumos sem nenhuma adição. Esta relação de valores é verificada tanto

para os sumos em que foi aplicado tratamento térmico de 75°C durante 5 minutos como para os sumos sem aplicação de tratamento térmico.

A adição de filmes de quitosano com incorporação de ácido ascórbico vai então influenciar os valores de acidez titulável nos sumos de ananás comparativamente com os sumos sem adição de ácido ascórbico, independentemente do tratamento térmico aplicado e do tempo de ensaio, o que se verifica estatisticamente. A adição de componentes de caráter ácido à solução, como é o caso do ácido ascórbico, vai consequentemente aumentar os valores de acidez titulável dos sumos. O aumento do ácido ascórbico resulta da sua migração do quitosano para o meio aquoso.

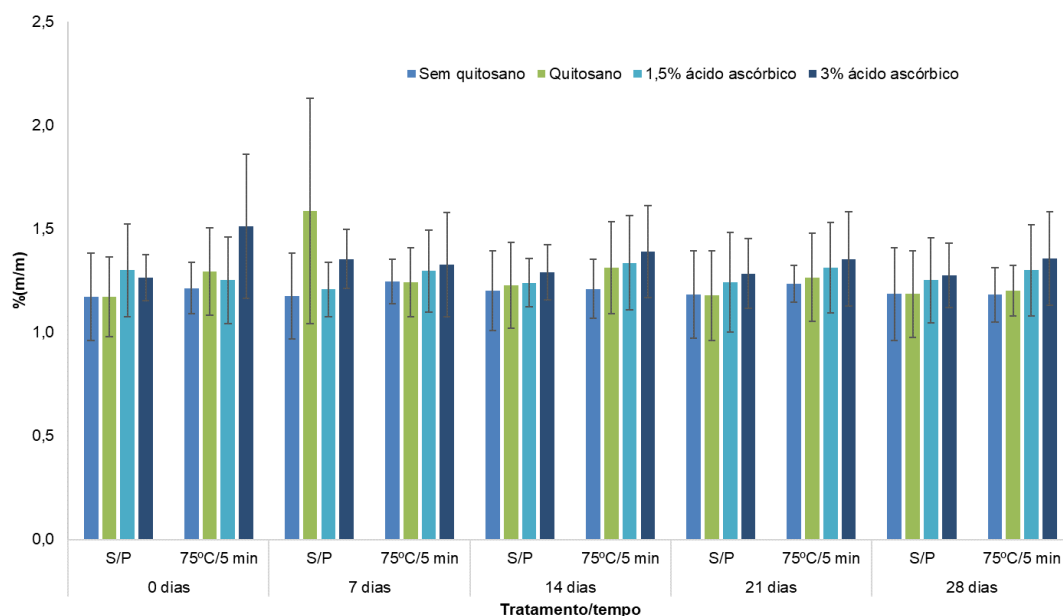


Figura 3.21 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, na variação da acidez titulável, expressa em ácido cítrico, ao longo de 28 dias.

O uso de quitosano como agente clarificante, em sumos de maçã, uva, laranja e limão, foi estudado sendo um dos parâmetros avaliados, o seu efeito na acidez titulável (Chatterjee et al., 2004). Este parâmetro, tal como neste ensaio, não teve grandes alterações, o que indica que a adição de quitosano não provocou grande alteração nos ácidos orgânicos presentes no sumo (Chatterjee et al., 2004). Ainda assim, é verificado um ligeiro aumento de acidez nos sumos em que apenas o filme de quitosano é adicionado em relação aos sumos sem nenhuma adição, demonstrando que o quitosano em si leva a um ligeiro aumento da acidez dos sumos. A adição de ácido ascórbico, incorporado nos filmes de quitosano, exerce o seu efeito de acidulante, podendo ser este o motivo do aumento dos valores de acidez nos sumos em que este foi adicionado quando comparado com os sumos em que apenas o filmes de quitosano foi adicionado ou sem nenhuma adição (Costa, 2015).

3.4.3 ÁCIDO ASCÓRBICO

O sumo de ananás, já contém na sua composição ácido ascórbico, porém, a aplicação de filmes de quitosano com incorporação de ácido ascórbico torna-se uma adição extra à sua composição. Como se observa na Figura 3.22, a adição de filmes de quitosano com ácido ascórbico leva a um aumento do seu conteúdo nos sumos. Os sumos em que se observa um maior conteúdo são aqueles em que se adicionou uma maior concentração de ácido ascórbico (3%), incorporado no filme de quitosano, seguido dos sumos com filmes com 1,5% de ácido ascórbico. No tempo 0 de ensaio, é bastante visível a diferença entre os sumos com filmes com adição de quitosano e ácido ascórbico e aqueles sem quitosano e em que apenas foi aplicado o filme de quitosano. Tudo indica, que o ácido ascórbico incorporado no quitosano migrou para a solução de sumo ou o quitosano se solubilizou, solubilizando igualmente o ácido ascórbico incorporado. Esta migração/solubilização explica os resultados obtidos. Apesar do conteúdo em ácido ascórbico ser bastante elevado nos sumos com quitosano e ácido ascórbico adicionado, a partir do tempo 0 há uma diminuição deste conteúdo, e ao fim de 28 dias de ensaio os valores estão próximos daqueles em que não houve adição de ácido ascórbico. O decréscimo de ácido ascórbico observado nos sumos em estudo, encontra-se num intervalo entre 72 e 97%. O ácido ascórbico, é um composto instável, sendo que a sua degradação é promovida por um aumento de temperatura e pela presença de oxigénio, levando à degradação aeróbia do ácido ascórbico quer com a intensidade do tratamento térmico quer com o tempo de armazenamento (Costa, 2015). O sumo que preserva um maior conteúdo em ácido ascórbico ao longo dos 28 dias, é aquele em que nenhum tratamento térmico foi aplicado, mas no qual foi adicionado filme de quitosano com 3% de ácido ascórbico. Os sumos sem pasteurização e com adição de filme com 1,5% de ácido ascórbico, também preservam um conteúdo mais elevado ao longo do tempo de ensaio, em relação aos sumos sem quitosano e só com filme de quitosano, o que se verifica estatisticamente. É possível afirmar que o tratamento térmico não tem um efeito positivo no que diz respeito à manutenção do conteúdo em ácido ascórbico ao longo do tempo, sendo visível a partir dos 21 dias essa redução. A temperatura, constitui um promotor de perda de ácido ascórbico, sendo que a temperaturas acima de 15°C, a degradação se torna significativa (Eça et al., 2014). Uma vez que o tratamento térmico aplicado (75°C durante 5 minutos) e a temperatura de armazenamento (37°C) se situam acima desse valor reportado, é possível afirmar que estas potenciam a sua degradação no sumos em estudo (Eça et al., 2014).

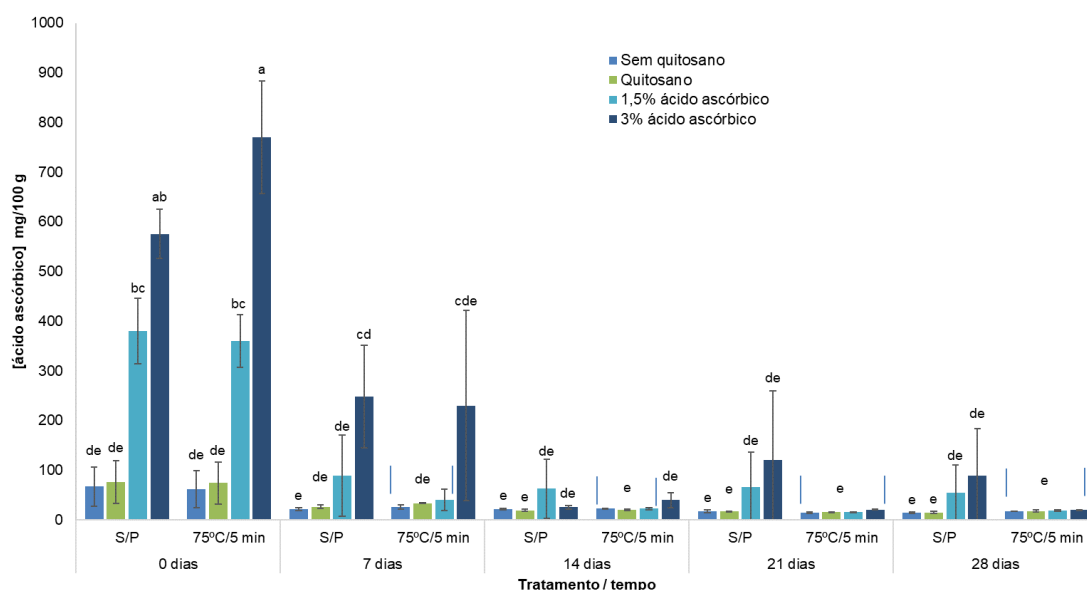


Figura 3.22 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, na variação do conteúdo em ácido ascórbico, expresso em mg/100 g, ao longo de 28 dias. a-e: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes sumos ($p < 0,05$).

3.4.4 COR

A cor foi estudada segundo vários parâmetros de forma a ter uma maior perceção acerca de possíveis alterações que a adição de filmes de quitosano com incorporação de ácido ascórbico possam implicar na qualidade dos sumos.

3.4.4.1 COORDENADA DE COR L^*

O parâmetro de cor L , torna-se objeto de estudo e o seu comportamento é observado na Figura 3.23. Para este, verifica-se uma diminuição a partir do tempo 7, sendo bastante visível nos sumos com adição de filmes de quitosano com 1,5 e 3% de ácido ascórbico. Após tratamento estatístico, observa-se que não existem diferenças significativas entre o tempo 0 e 7 de ensaio, havendo diferenças entre estes e os restantes tempos de ensaio, que também não registam diferenças estatísticas entre eles. O maior decréscimo ao longo do tempo deste parâmetro, é observado nos sumos com aplicação de quitosano incorporado com 3% de ácido ascórbico, havendo então uma diminuição da luminosidade, seguido dos sumos com filme de quitosano e 1,5% de ácido ascórbico. Os sumos sem quitosano e só com adição de quitosano, apresentam ligeira diminuição neste parâmetro, mas não tão notória como nos restantes sumos em estudo. O parâmetro L é influenciado nos sumos onde o tratamento térmico foi aplicado, com principal incidência nos sumos onde filmes com incorporação com ácido ascórbico foram adicionados, e onde se verifica um maior decréscimo, bastante visível a partir dos 21 dias. É possível afirmar que o tratamento térmico promove a degradação do ácido ascórbico adicionado, levando a um escurecimento dos sumos e, consequentemente, diminuindo o parâmetro L .

Martín-Diana e colaboradores, em estudo realizado em sumo de laranja ao qual foi adicionado quitosano em diversas concentrações, reportam que o quitosano tem efeito de clarificação no sumo de laranja, aumentando o parâmetro relativo à luminosidade deste (Martín-Diana et al., 2009). Comparando com os sumos aos quais se adicionou o filme de quitosano sem adição de ácido ascórbico, tal efeito não é verificado. No entanto, a adição do filme de quitosano tem um efeito de manutenção do parâmetro L , mantendo o seu valor constante ao longo de todo o tempo de ensaio, independentemente de ter sido aplicado tratamento térmico ou não.

É de salientar que a incorporação de ácido ascórbico nos filmes apesar do seu intuito da promoção da atividade antioxidante, pode levar a um escurecimento mais acentuado do sumo, levando à sua degradação, sendo por isso necessário um balanço entre a quantidade que se adiciona para promover a sua função como antioxidante mas que não seja excessiva o suficiente para promover mudanças nas propriedades organoléticas do produto. (Roig et al., 1999).

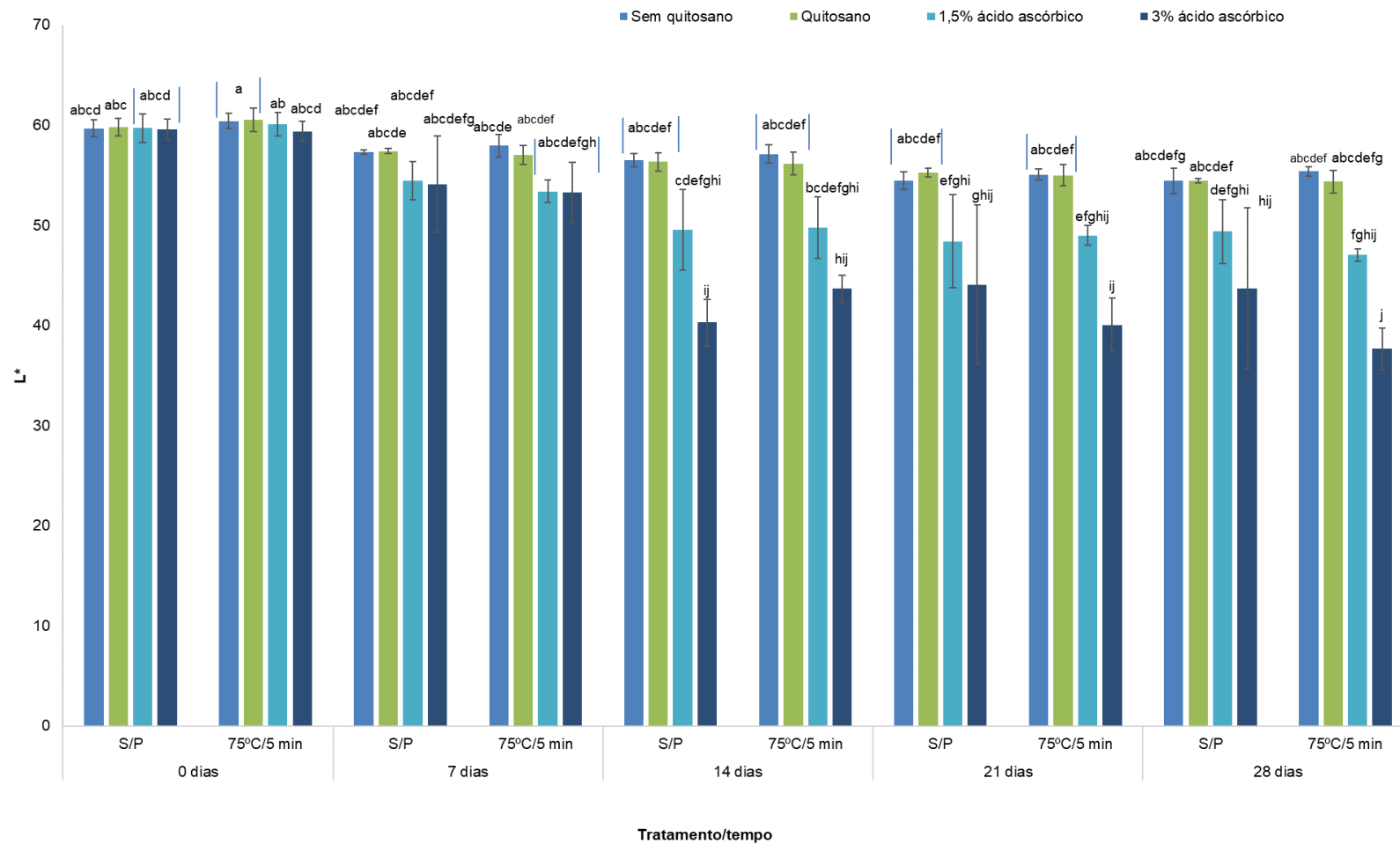


Figura 3.23 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, na variação do parâmetro de cor L, ao longo de 28 dias. a-j: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes sumos ($p < 0,05$).

3.4.4.2 VARIAÇÃO DA COR (ΔE)

No total do tempo de ensaio, verificam-se algumas alterações na variação de cor em alguns sumos em estudo. Estas variações são observadas na Figura 3.24, onde se verifica um aumento da variação de cor ao longo do tempo, e em particular a partir dos 14 dias, e com mais significado nos sumos com aplicação de quitosano incorporados com ácido ascórbico. Embora sem diferenças estatísticas, verifica-se que os sumos tratados termicamente também apresentam uma tendência para uma maior variação de cor. Este aumento do valor da variação da cor é especialmente verificado nos sumos com tratamento térmico e filme de quitosano com 3% de ácido ascórbico, em comparação com os sumos com a mesma constituição, mas sem tratamento térmico aplicado. Os sumos em que nada foi adicionado e aqueles em que se colocou apenas o filme de quitosano, registam apenas um ligeiro aumento de variação de cor, mantendo-se praticamente estáveis ao longo de todo o tempo de ensaio, o que é comprovado por análise estatística, não se verificando diferenças significativas entre eles. Relativamente às concentrações de ácido ascórbico utilizadas, verifica-se que há diferenças significativas, e que a concentração de ácido ascórbico adicionado influencia de forma muito significativa a cor dos sumos.

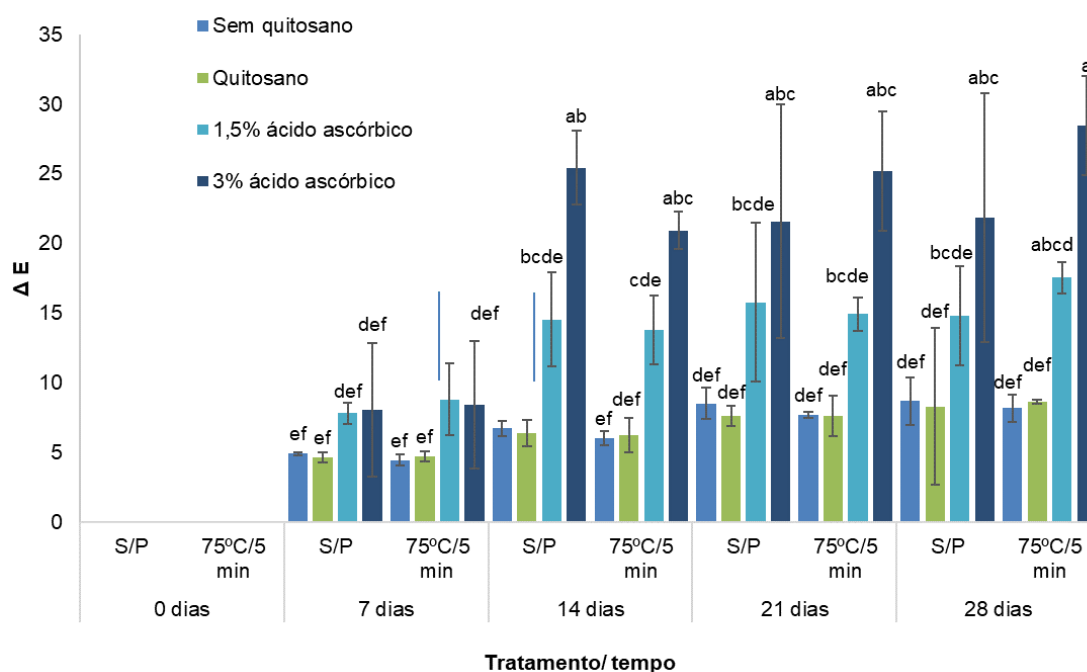


Figura 3.24 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, na variação da cor (ΔE), ao longo de 28 dias. a-f: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes sumos ($p < 0,05$).

A variação de cor nos sumos com adição de filmes com ácido ascórbico, independentemente do tratamento térmico, corrobora com o decréscimo do parâmetro L (Figura 3.23), onde uma maior diminuição da luminosidade foi verificada, contribuindo assim para um aumento de variação de cor.

3.4.4.3 ÍNDICE DE ESCURECIMENTO

O índice de escurecimento (IE) também foi alvo de alterações ao longo do tempo de ensaio. Essas alterações são visíveis logo após a aplicação do tratamento térmico numa parte dos sumos, comparando com os sumos que não foram pasteurizados como é observável na Figura 3.25. Há uma diferença clara entre os sumos com adição de filme de quitosano com incorporação de ácido ascórbico em relação aos sumos sem nada adicionado e apenas com quitosano, verificando-se um valor de índice de escurecimento muito superior nos primeiros, comprovado após análise estatística, demonstrando estas diferenças significativas. Ao longo de todo o tempo de ensaio, essa diferença é verificada, sendo que a partir dos 14 dias de ensaio não existem diferenças entre os tempos de ensaio. Os sumos que apresentam maior valor de índice de escurecimento são os sumos com adição de filmes de quitosano com 3% de ácido ascórbico, ao longo de todo o tempo de ensaio. Há uma igualdade entre estes sumos anteriormente referidos e os sumos com adição de quitosano com 1,5% de ácido ascórbico aos 28 dias, somente no caso dos sumos pasteurizados. Para os sumos simples e para os com adição de filme de quitosano, o índice de escurecimento sofre alterações muito ligeiras, sendo estas alterações verificadas para os sumos sem tratamento e para os sujeitos a tratamento a 75°C durante 5 minutos.

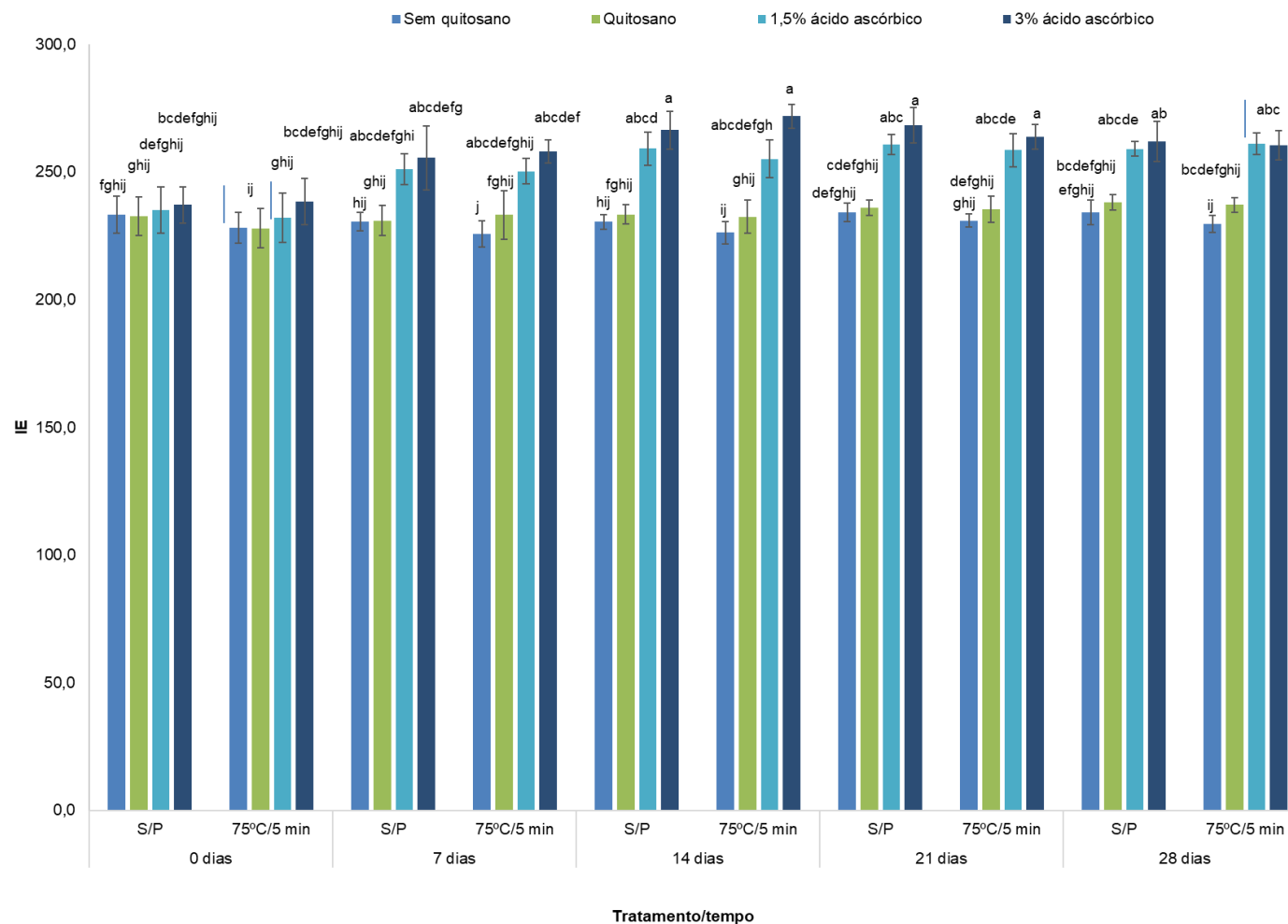


Figura 3.25 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, no índice de escurecimento, ao longo de 28 dias. a-j: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes sumos ($p < 0,05$).

3.4.4.4 ÂNGULO DE HUE

Os sumos sem adição de quitosano e com adição de filme de quitosano não apresentaram grandes alterações no ângulo de Hue, podendo indicar que a cor dos sumos se manteve ao longo de todo o tempo de ensaio, como observado na Figura 3.26. O mesmo não se verifica para os sumos nos quais foram adicionados filmes de quitosano com incorporação de ácido ascórbico de 1,5 e 3%, sendo estes últimos os que apresentaram maior diminuição. Esta diminuição é verificada logo após o tempo 0, havendo um decréscimo constante ao longo de todo o tempo de ensaio, sendo que a partir do tempo 14, não existem diferenças estatisticamente significativas entre eles. O sumo em que se verificou uma maior diminuição de ângulo de Hue foi o sumo de ananás sujeito a tratamento térmico e ao qual se adicionou quitosano com 3% de ácido ascórbico.

Estes resultados são consistentes com todos os parâmetros relativamente à cor, podendo-se concluir que a utilização de filmes de quitosano com incorporação de ácido ascórbico levou a uma maior alteração de cor nos sumos, havendo escurecimento por parte destes. A adição de filmes quitosano apenas, não provoca alterações na cor. No entanto, quando aos filmes é adicionada uma determinada concentração de ácido ascórbico e são introduzidos nos sumos, revelam uma alteração na cor dos sumos. Pode-se afirmar que quanto maior a concentração de ácido ascórbico no filme de quitosano, maior será o escurecimento do sumo no qual este for introduzido, e que esta variação é potencializada pelo tratamento térmico à amostra.

A adição de ácido ascórbico aos filmes de quitosano, pode promover o aumento do escurecimento dos sumos ao longo do tempo, que apesar de ser um composto adicionado com a função de antioxidante, pode potenciar o seu escurecimento não enzimático (Roig et al., 1999).

3.4.5 PPO

A análise da verificação da atividade da enzima polifenoloxidase foi efetuada para todos os sumos elaborados neste ensaio, não se observando qualquer tipo de atividade.

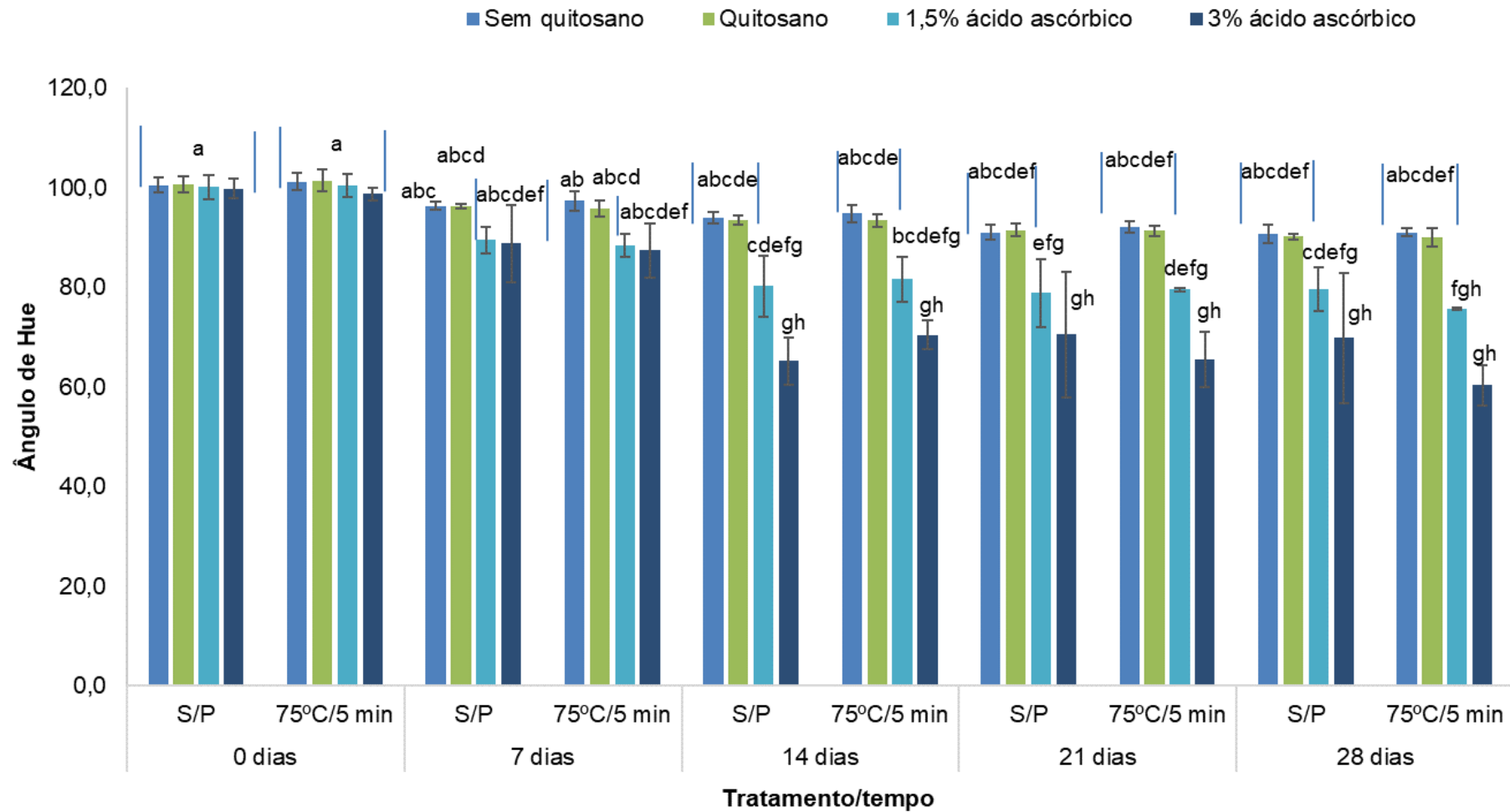


Figura 3.26 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, no ângulo de Hue, ao longo de 28 dias. a-h: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes sumos ($p < 0,05$).

3.4.6 TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS (°BRIX)

O teor de sólidos solúveis totais foi também analisado, observando-se ligeiras alterações (Figura 3.27). Logo no tempo 0, os sumos pasteurizados e com adição de quitosano e 3% de ácido ascórbico, demonstraram um elevado conteúdo em sólidos solúveis totais, mantendo-se como os sumos com maior conteúdo ao longo de todo o tempo de ensaio. Os sumos sem pasteurização apresentam valores ligeiramente mais baixos, em relação aos sumos pasteurizados. Os sumos sem adição de quitosano e só com quitosano, com ou sem tratamento térmico, são os que apresentam um teor de °Brix relativamente constante durante os 28 dias. Os sumos pasteurizados são os que apresentam maior teor de sólidos solúveis totais, podendo dever-se ao factor de concentração que decorre da perda de água durante o tratamento térmico. O aumento de sólidos solúveis com o aumento de ácido ascórbico no quitosano pode dever-se a uma eventual inversão da sacarose no meio ácido, libertando os açúcares redutores glucose e frutose. Ao ser realizado tratamento estatístico a este parâmetro, verifica-se, no entanto, que as diferenças observadas não são significativas, não sendo o tempo de armazenamento e a adição de filme de quitosano com ou sem incorporação de ácido ascórbico, com o sem tratamento térmico, parâmetros que afetem o conteúdo em sólidos solúveis totais.

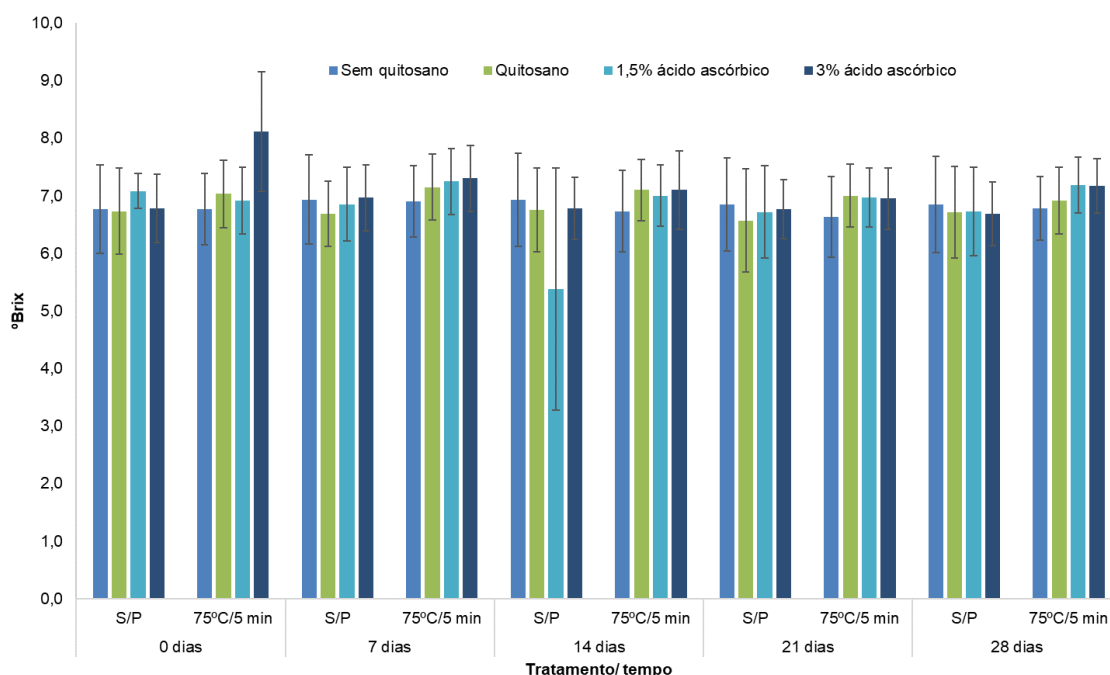


Figura 3.27 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, no teor de sólidos solúveis totais, expresso em °Brix, ao longo de 28 dias.

Martín-Diana e colaboradores (2009), reportam que sumos de laranja tratados termicamente e enriquecidos com quitosano, mantêm o teor de sólidos solúveis totais ao longo do armazenamento (a 4°C), tal como é verificado neste estudo, em que há uma manutenção dos °Brix ao longo dos 28 dias na maioria dos sumos (Martín-Diana et al., 2009). O tratamento

térmico aplicado, revela também uma tendência para o aumento dos °Brix quando comparados com sumos não tratados, demonstrando assim um comportamento concordante com os sumos em estudo em que se observa uma tendência para o aumento com o tratamento térmico. Neste tratamento térmico poderá ter ocorrido a hidrólise de polissacáridos, o que poderá ter contribuído para o ligeiro aumento de sólidos solúveis totais. Outro estudo demonstra comportamentos semelhantes com os observados na figura 3.27, em que o quitosano foi utilizado como agente clarificante em sumos de fruta e o uso demonstrou não ter influência no teor de sólidos solúveis totais (Chatterjee et al., 2004), tal como observado neste estudo em que não se observam diferenças entre sumos pasteurizados ou não pasteurizados com e sem quitosano.

3.4.7 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Os compostos fenólicos totais constituem também motivo de análise neste ensaio, observando-se as suas alterações ao longo do ensaio na Figura 3.28.

No geral, para todos os sumos se observou uma diminuição no conteúdo em compostos fenólicos totais, sendo esta menos acentuada nos sumos sem adição de filme de quitosano e onde só foi adicionado filme de quitosano. Os sumos que apresentaram um maior conteúdo em compostos fenólicos totais foram os sumos com adição de filme de quitosano com 3% de ácido ascórbico. Esta condição verifica-se ao longo de todo o tempo de ensaio, no entanto, também são estes que sofrem uma maior diminuição ao longo do tempo. Este aumento do conteúdo em compostos fenólicos totais com o aumento do ácido ascórbico incorporado no quitosano, pode residir no fato do reagente de Folin-Ciocalteu não ser específico para compostos fenólicos, podendo ser reduzido pelo ácido ascórbico (Magalhães et al. 2008; Piljac-Žegarac et al. 2009). Os sumos aos quais não foi adicionado quitosano ou apenas o filme de quitosano, apresentaram logo desde o início do ensaio um menor conteúdo em compostos fenólicos, e embora também tenham sofrido uma perda ao longo do tempo de compostos fenólicos, o seu decréscimo não foi tão acentuado como nos sumos com filme de quitosano e ácido ascórbico. Aparentemente, nos sumos em que não é adicionado ácido ascórbico, a diferença entre a aplicação de tratamento térmico ou a não aplicação, não demonstra ser um fator preponderante na diminuição do conteúdo em compostos fenólicos. No caso dos sumos com filmes de quitosano e ácido ascórbico a 3%, os sumos não pasteurizados e pasteurizados, demonstram diferenças entre eles, sendo que os segundos apresentam valores mais elevados até ao 14º dia, onde após esse tempo de ensaio, esta relação inverte-se. Quanto aos sumos com quitosano e 1,5% de ácido ascórbico, os que não foram sujeitos a tratamento térmico apresentam maior conteúdo em compostos fenólicos que os pasteurizados, demonstrando que o tratamento térmico tem potencial influência na perda de compostos fenólicos. O comportamento do tempo de armazenamento dos diferentes sumos em estudo, demonstra que a partir do 7 dia não existem diferenças estatisticamente significativas, demonstrando uma tendência geral para a diminuição do conteúdo em compostos fenólicos. Segundo um estudo realizado em sumos de ananás, com adição de filme de quitosano reticulados com genipina,

em armazenamento a 37°C durante 6 meses, observa-se que o tempo de armazenamento afetou os compostos fenólicos do sumo, havendo uma diminuição ao longo do período de armazenamento e onde também se verifica que os sumos em que o filme foi introduzido refletem uma diminuição gradual destes compostos (Costa, 2015).

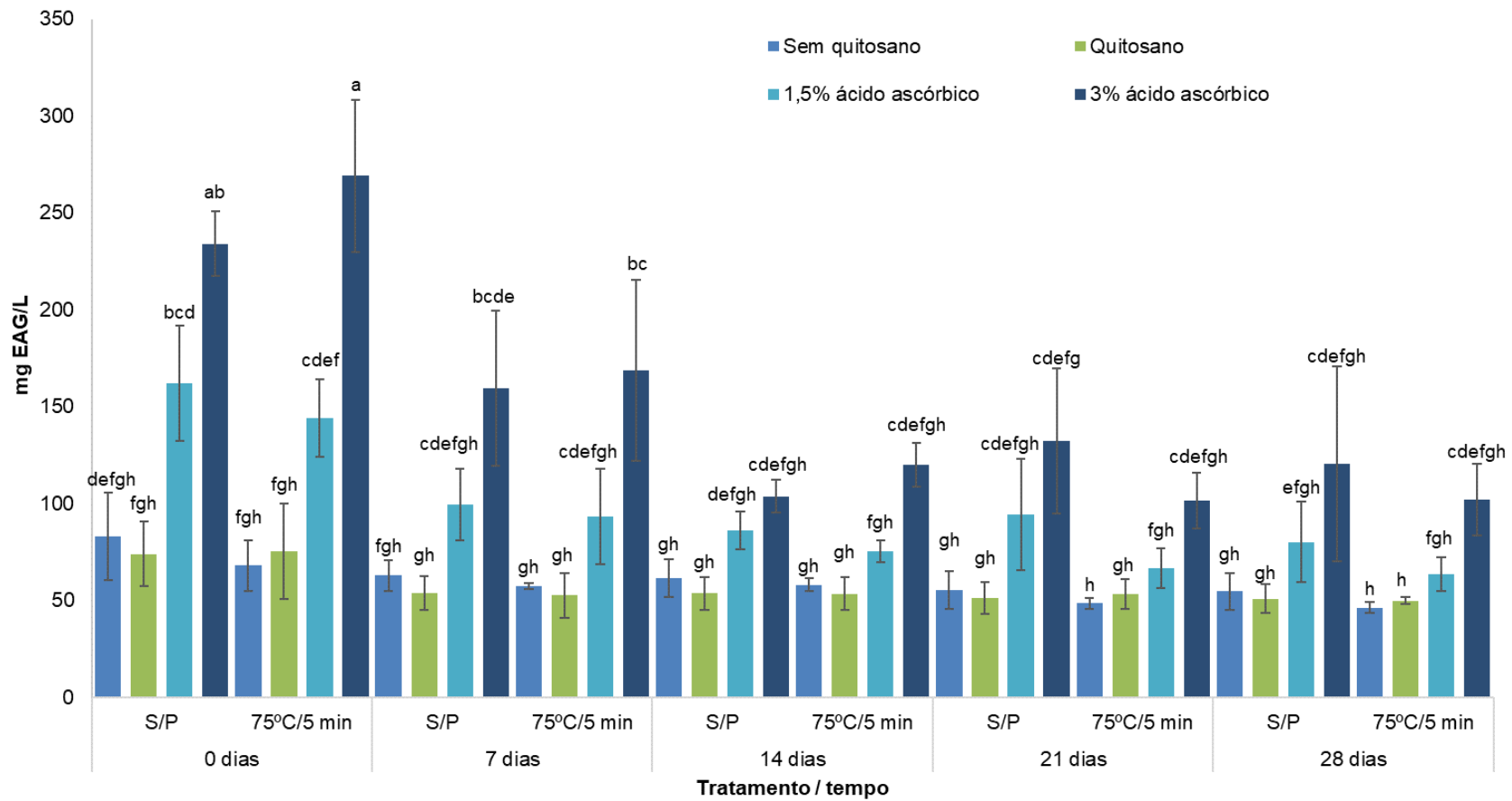


Figura 3.28 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, no conteúdo em compostos fenólicos totais, expressos em mg EAG/L, ao longo de 28 dias. a-h: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes sumos ($p < 0,05$).

3.4.8 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante, foi analisada durante os 28 dias de ensaio, como demonstra a Figura 3.29. Os filmes de quitosano com incorporação de 3% de ácido ascórbico, demonstram ter efeito na atividade antioxidante dos sumos onde são inseridos, registando os valores mais elevados de todos os sumos analisados. Este resultado era esperado uma vez que o ácido ascórbico é um antioxidante. Após o tempo inicial de ensaio, verifica-se um decréscimo geral na atividade antioxidante dos sumos de ananás. Este decréscimo resulta da degradação e oxidação do ácido ascórbico e outros compostos com atividade antioxidante, situando-se este valor entre os 9 e os 75%. No fim dos 28 dias de tempo de ensaio, os sumos sem pasteurização demonstram uma menor perda de atividade antioxidante em relação aos sumos pasteurizados a 75°C durante 5 minutos.

Observam-se diferenças entre os sumos sem quitosano e só com filme de quitosano em relação aos sumos nos quais foram adicionados filmes de quitosano com incorporação de ácido ascórbico, observando-se uma maior atividade antioxidante nestes últimos, sendo esta relação verificada por análise estatística. Os sumos sem quitosano e apenas com filme de quitosano adicionados, demonstram comportamentos semelhantes. A partir do 7º dia de ensaio, verifica-se que não existem diferenças significativas em relação aos seguintes tempos de ensaio.

Um estudo realizado em vinhos, em que filmes de quitosano reticulados com genipina foram introduzidos em vinho tinto e a atividade antioxidante foi analisada ao longo de 8 meses, verifica-se uma diminuição desta ao longo do tempo em relação ao vinho sem adição de filme (Cunha, 2011). Este resultado mostra-se semelhante ao verificado na Figura 3.29, em que os sumos onde se adicionou quitosano registaram valores de atividade antioxidante mais elevados que os sumos sem nenhuma adição, permanecendo esta relação ao longo dos 28 dias de ensaio.

Após finalização deste ensaio, é de salientar que a adição de filmes de quitosano com incorporação de ácido ascórbico tem efeitos nos sumos de ananás. Estes, levaram a um escurecimento e maior variação de cor, quando comparados com sumos sem nenhuma adição ou só com adição de filme de quitosano. A incorporação de ácido ascórbico no quitosano contribuiu também para o aumento da actividade antioxidante do sumo, para o teor de fenóis (que reflectem não o aumento de fenóis mas o aumento de ácido ascórbico no meio) e de ácido ascórbico no sumo e da acidez titulável. Ao longo do tempo, devido à oxidação do ácido ascórbico, há uma redução dos teores em ácido ascórbico no sumo, uma maior variação de cor, uma redução do teor em fenóis (determinação que reflecte a redução de ácido ascórbico no meio) e uma redução da actividade antioxidante. Estas alterações são mais visíveis nos sumos com adição de filme de quitosano com incorporação de ácido ascórbico, sendo aqueles em que a concentração de ácido ascórbico foi mais elevada, os que contribuíram para uma maior variação das características do sumo.

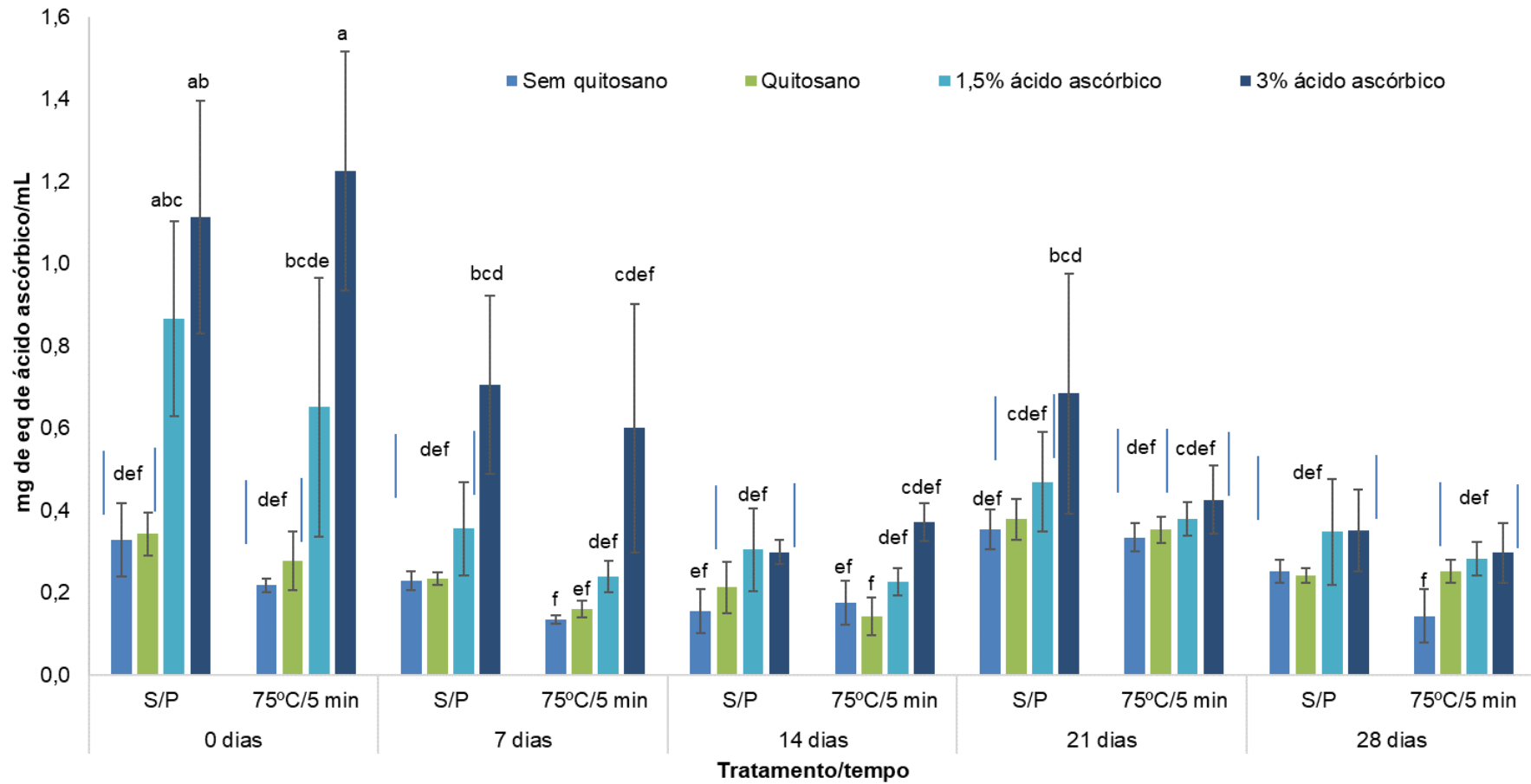


Figura 3.29 - Efeito da aplicação de filmes de quitosano com e sem incorporação de ácido ascórbico, em sumos de ananás, com e sem tratamento térmico, na atividade antioxidante, expressa em mg de equivalentes de ácido ascórbico/mL, ao longo de 28 dias. a-f: Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes sumos ($p < 0,05$).

4 CONCLUSÃO E PERSPETIVAS FUTURAS

Neste trabalho foram desenvolvidos vários ensaios de forma a compreender a evolução de concentrados de ananás e de sumos de ananás em termos do seu escurecimento. A adição de biofilmes de quitosano com incorporação de ácido ascórbico aos sumos de ananás tornou-se o ponto inovador deste trabalho, realizando-se análises após a sua adição no sentido de observar o seu potencial efeito na redução do escurecimento dos sumos.

No primeiro ensaio realizado, em que os concentrados permaneceram em condições de refrigeração durante 4 semanas, todas as características avaliadas permaneceram estáveis. É possível então afirmar que a utilização de condições de refrigeração (4°C) constitui uma forma de conservação de concentrados de ananás, preservando a maioria das suas características. O teor em ácido ascórbico verificou-se ser o parâmetro mais afetado ao longo do tempo de armazenamento na maior parte dos concentrados em estudo, tendo-se observado uma redução da sua concentração devido à sua oxidação. Consequentemente observou-se também uma redução da atividade antioxidante dos sumos ao longo das 4 semanas de armazenamento em frio (4°C). No entanto, a redução do teor de ácido ascórbico não teve efeitos a nível do escurecimento das polpas. É de realçar, que a realização da determinação da atividade da enzima PPO revelou a sua ausência tanto nos concentrados como nos sumos posteriormente elaborados, revelando que a enzima não é motivo que contribua para o escurecimento dos sumos. Caso estivesse presente, os tratamentos térmicos poderiam ter promovido a sua inativação.

No segundo ensaio, onde diferentes binómios tempo/temperatura foram aplicados a sumos de ananás, verificou-se que os sumos sujeitos a maior tempo de pasteurização (30 minutos) tiveram maior influência na degradação das características dos sumos. O tratamento térmico no tempo 0 de ensaio reduziu o teor em ácido ascórbico, independentemente da temperatura/tempo utilizada, o que influenciou a actividade antioxidante, que foi também mais reduzida com o tratamento térmico, tendo-se também verificado um aumento da variação de cor com a aplicação do tratamento térmico. A temperatura de armazenamento utilizada (37°C), com o intuito de acelerar a degradação, promoveu a diminuição de alguns componentes da matriz. Ao longo do tempo, verifica-se igualmente a redução dos teores de ácido ascórbico, e, consequentemente, da actividade antioxidante dos sumos, obtendo-se uma maior variação de cor devido à oxidação do ácido ascórbico.

Na terceira fase do trabalho, a temperatura e tempo utilizado para tratamento térmico, foi selecionada com base no ensaio anterior, sendo o conjunto 75°C/5 minutos o binómio tempo/temperatura, o que demonstrou uma melhor preservação das características, mantendo o conteúdo em ácido ascórbico mais elevado de todos os tratamentos térmicos aplicados no tempo 0. Este tratamento foi também escolhido por ser o que gasta menor energia promovendo uma menor degradação inicial dos sumos.

A adição de biofilmes de quitosano com adição de ácido ascórbico, consistiu num ensaio determinante para avaliar a possibilidade de utilização destes por parte da indústria alimentar, podendo ser adicionado aos sumos para uma melhor conservação. No entanto necessitaria de modificações de modo a se degradar a uma velocidade inferior permitindo uma libertação mais gradual de componente antioxidantes incorporados. Podem também ser estudados outros biofilmes.

O ácido ascórbico adicionado promoveu um escurecimento mais acentuado dos sumos, principalmente aqueles em que a sua concentração no filme de quitosano era maior (3%) e os quais foram sujeitos a tratamento térmico (75°C durante 5 minutos). Este escurecimento, apesar da adição de um antioxidante, demonstra que a adição em concentrações excessivas vai ter o efeito oposto ao pretendido, promovendo um escurecimento muito mais acentuado, e que resulta da oxidação do antioxidante (neste caso ácido ascórbico). Neste ensaio, quase todos os parâmetros sofreram uma variação ao longo do tempo, tendo maior incidência nos sumos que foram tratados termicamente e com adição de quitosano incorporado com 3% de ácido ascórbico. Verifica-se que a influência da adição de ácido ascórbico foi mais determinante para a variação das características do sumo ao longo do tempo de armazenamento do que o tratamento térmico.

O uso de quitosano, sem incorporação de ácido ascórbico, mantém as propriedades do sumo em geral, sendo possível afirmar que este pode ser utilizado em sumos de ananás como meio de adição de outras substâncias benéficas à conservação de sumos de fruta. Quando se avalia o ensaio onde se testaram diferentes binómios tempo/temperatura com o ensaio onde a adição de biofilmes com incorporação de ácido ascórbico foi realizada, este último revela uma capacidade antioxidante mais elevada devido à adição externa de um antioxidante.

A adição de biofilmes de quitosano com incorporação de ácido ascórbico, revela ser uma área com necessidade de maior exploração e no qual os trabalhos devem continuar a ser desenvolvidos no sentido de encontrar alternativas que permitam garantir a qualidade dos sumos de fruta durante um maior período de tempo. Balancear a quantidade de ácido ascórbico incorporada no quitosano com a variação observada ao longo do tempo da cor pode contribuir para um sumo que mantém as suas características por um tempo mais longo. O uso de novas concentrações, intermediárias às concentrações utilizadas, será um ponto interessante a desenvolver, de forma a apurar a concentração ideal, que não exceda o valor de ácido ascórbico para o qual este comece a promover reações de escurecimento. A realização de testes à atividade microbiana é mais um dos pontos no sentido de um melhor desenvolvimento deste trabalho, com o fim de compreender o efeito do quitosano na preservação dos sumos pasteurizados a baixas temperaturas, de forma a observar a sua capacidade antimicrobiana nos sumos de fruta. É necessário estudar novas matrizes que possam ser introduzidas nos sumos e que possam incorporar antioxidantes libertando-os de forma mais lenta do que o observado com o quitosano bem como a utilização de antioxidantes que não promovam o escurecimento dos sumos. A caracterização da atividade da peroxidase e do teor de carotenóides (embora estes estejam presentes em quantidades vestigiais,

habitualmente) em diferentes condições de processamento e armazenagem têm também interesse em ser objeto de estudo, uma vez que podem, no futuro, aportar conhecimento sobre o seu papel na estabilidade da cor do sumo de ananás.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abouraïcha, E., El Alaoui-Talibi, Z., El Boutachfai, R., Petit, E., Courtois, B., Courtois, J., El Modafar, C., 2015. Induction of natural defense and protection against *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* in apple fruit in response to bioelicitors isolated from green algae. *Sci. Hortic.* (Amsterdam). 181, 121–128.
- Achinewhu, S.C., Hart, A.D., 1994. Effect of processing and storage on the ascorbic acid (vitamin C) content of some pineapple varieties grown in the Rivers State of Nigeria. *Plant Foods Hum. Nutr.* 46, 335–337.
- Adrian, J., Potus, J., Poiffait, A., Dauvillier, P., 2000. Análisis nutricional de los alimentos. Editorial Acribia, S.A., Saragoça, Espanha.
- Ajibola, V.O., Babatunde, O. a, Suleiman, S., 2009. The effect of storage method on the vitamin C content in some tropical fruit juices. *Trends Appl. Sci. Res.*
- Akinyele, I., Keshinro, O., Akinlawo, O., 1990. Nutrient losses during and after processing of pineapples and oranges. *Food Chem.* 37, 181–188.
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis of AOAC International, in: Association of Official Analysis Chemists International. Ed. Association of Analytical Chemists, Arlington, EUA.
- Assawarachan, R., Noomhorm, A., 2010. Changes in color and rheological behavior of pineapple concentrate through various evaporation methods. *Int. J. Agric. Biol. Eng.* 3, 74–84.
- Avallone, S., Guiraud, J.P., Brillouet, J.M., Teisson, C., 2003. Enzymatic browning and biochemical alterations in black spots of pineapple [*Ananas comosus* (L.) Merr.]. *Curr. Microbiol.* 47, 113–118.
- Bértolo, D.F.Q., 2011. Aplicação de Quitosano na Redução do Escurecimento Enzimático em Sumo de Maçã Não Pasteurizado (Estabilizado por Hiperpressão). Universidade Nova de Lisboa - Faculdade de Ciências e Tecnologia.
- Beveridge, T., 2002. Opalescent and cloudy fruit juices: formation and particle stability. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 42, 317–337.
- Bhandari, B.R., Datta, N., Crooks, R., Howes, T., Rigby, S., 1997. A Semi-Empirical Approach To Optimise the Quantity of Drying Aids Required To Spray Dry Sugar-Rich Foods. *Dry. Technol.* 15, 2509–2525.
- Bodelón, O.G., Avizcuri, J.M., Fernández-Zurbano, P., Dizi, M., Préstamo, G., 2013. Pressurization and cold storage of strawberry purée: Colour, anthocyanins, ascorbic acid and pectin methylesterase. *LWT - Food Sci. Technol.* 52, 123–130.
- Bonilla-Zavaleta, E., Vernon-Carter, E.J., Beristain, C.I., 2006. Thermophysical properties of freeze-concentrated pineapple juice. *Ital. J. Food Sci.* 18, 367–376.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci. Technol.* 28, 25–30.
- Brito, C.A.K. De, Sato, H.H., Spironello, A., Siqueira, W.J., 2005. Características da atividade da peroxidase de abacaxis (*Ananas comosus* (L.) Merrill) da cultivar IAC Gomo-de-mel e do clone IAC-1. *Ciência e Tecnol. Aliment.* 25, 244–249.
- Buedo, A.P., Elustondo, M.P., Urbicain, M.J.U., 2001. Amino acid loss in peach juice concentrate during storage. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 1, 281–288.
- Burdurlu, H.S., Karadeniz, F., 2003. Effect of storage on nonenzymatic browning of apple juice concentrates. *Food Chem.* 80, 91–97.
- Cámara, M., Díez, C., Torija, E., 1995. Chemical characterization of pineapple juices and

nectars. Principal components analysis. *Food Chem.* 54, 93–100.

Cámara, M.M., Díez, C., Torija, M.E., 1996. Free sugars determination by HPLC in pineapple products. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 202, 233–237.

Carneiro, L., Dos Santos Sa, I., Dos Santos Gomes, F., Matta, V.M., Cabral, L.M.C., 2002. Cold sterilization and clarification of pineapple juice by tangential microfiltration. *Desalination* 148, 93–98.

Chakraborty, S., Rao, P.S., Mishra, H.N., 2015. Effect of combined high pressure-temperature treatments on color and nutritional quality attributes of pineapple (*Ananas comosus* L.) puree. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 28, 10–21.

Chakraborty, S., Rao, P.S., Mishra, H.N., 2014. Effect of pH on Enzyme inactivation kinetics in high-pressure processed pineapple (*Ananas comosus* L.) puree using response surface methodology. *Food Bioprocess Technol.* 7, 3629–3645.

Chatterjee, S., Chatterjee, S., Chatterjee, B.P., Guha, A.K., 2004. Clarification of fruit juice with chitosan. *Process Biochem.* 39, 2229–2232.

Chia, S.L., Rosnah, S., Noranizan, M.A., Wan Ramli, W.D., 2012. The effect of storage on the quality attributes of ultraviolet-irradiated and thermally pasteurised pineapple juices. *Int. Food Res. J.* 19, 1001–1010.

Choi, M.H., Kim, G.H., Lee, H.S., 2002. Effects of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (*Citrus sinensis*) juice during refrigerated storage. *Food Res. Int.* 35, 753–759.

Chutintrasri, B., Noomhorm, A., 2007. Color degradation kinetics of pineapple puree during thermal processing. *LWT - Food Sci. Technol.* 40, 300–306.

Chutintrasri, B., Noomhorm, A., 2006. Thermal inactivation of polyphenoloxidase in pineapple puree. *LWT - Food Sci. Technol.* 39, 492–495.

Costa, D.B., 2015. Estudo da utilização de filmes de quitosana como conservante de sumos. Univ. Aveiro. Universidade de Aveiro.

Costa, M.G.M., Fonteles, T.V., de Jesus, A.L.T., Almeida, F.D.L., de Miranda, M.R.A., Fernandes, F.A.N., Rodrigues, S., 2013. High-Intensity Ultrasound Processing of Pineapple Juice. *Food Bioprocess Technol.* 6, 997–1006.

Couto, D.S., Cabral, L.M.C., da Matta, V.M., Deliza, R., Freitas, D. de G.C., 2011. Concentration of pineapple juice by reverse osmosis: physicochemical characteristics and consumer acceptance. *Ciência e Tecnol. Aliment.* 31, 905–910.

Cunha, Â.M.M.V. da, 2011. Desenvolvimento de filmes de quitosana com atividade antioxidante. Diss. Mestr. Univ. Aveiro. Universidade de Aveiro.

da Silva, D.I.S., Nogueira, G.D.R., Duzcioni, A.G., Barrozo, M.A.S., 2013. Changes of antioxidant constituents in pineapple (*Ananas comosus*) residue during drying process. *Ind. Crops Prod.* 50, 557–562.

de Barros, S.T.D., Andrade, C.M.G., Mendes, E.S., Peres, L., 2003. Study of fouling mechanism in pineapple juice clarification by ultrafiltration. *J. Memb. Sci.* 215, 213–224.

De Oliveira, T.M., De Fátima Ferreira Soares, N., De Paula, C.D., Viana, G.A., 2008. Uso de embalagem ativa na inibição do escurecimento enzimático de maçãs. *Semin. Ciências Agrárias* 29, 117–128.

Dutta, P.K., Tripathi, S., Mehrotra, G.K., Dutta, J., 2009. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chem.* 114, 1173–1182.

- Eça, K.S., Sartori, T., Menegalli, F.C., 2014. Films and edible coating containing antioxidants - a review. *Brazilian J. Food Technol.* 17, 98–112.
- Elabee, M.Z., Abdou, E.S., 2013. Chitosan based edible films and coatings: A review. *Mater. Sci. Eng. C* 33, 1819–1841.
- Elss, S., Preston, C., Hertzog, C., Heckel, F., Richling, E., Schreier, P., 2005. Aroma profiles of pineapple fruit (*Ananas comosus* [L.] Merr.) and pineapple products. *LWT - Food Sci. Technol.* 38, 263–274.
- Ewaidah, E.H., 1992. Studies on commercially canned juices produced locally in Saudi Arabia: Part 3-Physicochemical, organoleptic and microbiological assessment. *Food Chem.* 44, 103–111.
- FAOSTAT, 2014. Production of Pineapples, top 10 producers [WWW Document]. URL <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (accessed 2.27.17).
- Fernando, A.L., 2016. Folhas de Apoio à disciplina de Conservação de Alimentos. DCTB, FCT/UNL.
- Fernando, A.L., 2015. Análise de alimentos: caracterização físico-química. FCT/UNL, disponível em <http://docentes.fct.unl.pt/ala/publications>.
- Fernando, A.L., 2006. Folhas de Apoio à disciplina de Acondicionamento e Embalagem de Alimentos. GDEH, FCT/UNL.
- Garza, S., Ibarz, A., 2010. Effect of Temperature and Concentration on the Density of Clarified Pineapple Juice. *Int. J. Food Prop.* 13, 913–920.
- Goh, S.G., Noranizan, M., Leong, C.M., Sew, C.C., Sobhi, B., 2012. Effect of thermal and ultraviolet treatments on the stability of antioxidant compounds in single strength pineapple juice throughout refrigerated storage. *Int. Food Res. J.* 19, 1131–1136.
- Grizotto, R.K., Bruns, R.E., De Aguirre, J.M., De Menezes, H.C., 2007. Technological aspects for restructuring concentrated pineapple pulp. *LWT - Food Sci. Technol.* 40, 759–765.
- Hong, K., Xu, H., Wang, J., Zhang, L., Hu, H., Jia, Z., Gu, H., He, Q., Gong, D., 2013. Quality changes and internal browning developments of summer pineapple fruit during storage at different temperatures. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 151, 68–74.
- Hongvaleerat, C., Cabral, L.M.C., Dornier, M., Reynes, M., Ningsanond, S., 2008. Concentration of pineapple juice by osmotic evaporation. *J. Food Eng.* 88, 548–552.
- Hossain, M.A., Rahman, S.M.M., 2011. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. *Food Res. Int.* 44, 672–676.
- Hounhouigan, M.H., Linnemann, A.R., Soumanou, M.M., Van Boekel, M. a. J.S., 2014. Effect of Processing on the Quality of Pineapple Juice. *Food Rev. Int.* 30, 112–133.
- Imeri, A.G., Knorr, D., 1988. Effects of Chitosan on Yield and Compositional Data of Carrot and Apple Juice. *J. Food Sci.* 53, 1707–1709.
- INSA, 2017a. Detalhe alimento Composição [g / 100g] Distribuição energética Valores por 100g de parte edível - Ananás [WWW Document]. URL <http://portfir.insa.pt/foodcomp/pdf?710> (accessed 2.16.17).
- INSA, 2017b. Detalhe alimento Composição [g / 100g] Distribuição energética Valores por 100g de parte edível - Sumo de ananás, 100% [WWW Document]. URL <http://portfir.insa.pt/foodcomp/pdf?899> (accessed 2.16.17).
- INSA, 2017c. Detalhe alimento Composição [g / 100g] Distribuição energética Valores por 100g de parte edível - Sumo de ananás, concentrado [WWW Document]. URL

<http://portfir.insa.pt/foodcomp/pdf?904> (accessed 2.16.17).

Kabasakalis, V., Siopidou, D., Moshatou, E., 2000. Ascorbic acid content of commercial fruit juices and its rate of loss upon storage. *Food Chem.* 70, 325–328.

Keenan, D.F., Brunton, N.P., Gormley, T.R., Butler, F., Tiwari, B.K., Patras, A., 2010. Effect of thermal and high hydrostatic pressure processing on antioxidant activity and colour of fruit smoothies. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 11, 551–556.

Kerch, G., 2015. Chitosan films and coatings prevent losses of fresh fruit nutritional quality: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 46, 159–166.

Khalid, N., Suleria, H., Ahmed, I., 2016. Pineapple Juice, in: Shahidi, F., Alasalvar, C. (Eds.), *Handbook of Functional Beverages and Human Health*. pp. 489–500.

Lako, J., Trenerry, V.C., Wahlqvist, M., Wattanapenpaiboon, N., Sotheeswaran, S., Premier, R., 2007. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chem.* 101, 1727–1741.

Laorko, A., Li, Z., Tongchitpakdee, S., Chantachum, S., Youravong, W., 2010. Effect of membrane property and operating conditions on phytochemical properties and permeate flux during clarification of pineapple juice. *J. Food Eng.* 100, 514–521.

Laorko, A., Tongchitpakdee, S., Youravong, W., 2013. Storage quality of pineapple juice non-thermally pasteurized and clarified by microfiltration. *J. Food Eng.* 116, 554–561.

Lee, H.S., Chen, C.S., 1998. Rates of Vitamin C Loss and Discoloration in Clear Orange Juice Concentrate during Storage at Temperatures of 4–24 °C. *J. Agric. Food Chem.* 46, 4723–4727.

Lima Tribst, A.A., de Souza Sant'Ana, A., de Massaguer, P.R., 2009. Review: Microbiological quality and safety of fruit juices—past, present and future perspectives. *Crit. Rev. Microbiol.* 35, 310–339.

Lin, D., Zhao, Y., 2007. Innovations in the Development and Application of Edible Coating for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 6, 60–75.

Lobo, M.G., Paull, R.E., 2017. *Handbook of Pineapple Technology: Production, Postharvest Science, Processing and Nutrition*. John Wiley & Sons.

Magalhães, L.M., Segundo, M.A., Reis, S., Lima, J.L.F.C., 2008. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Anal. Chim. Acta* 613, 1–19.

Martín-Diana, A.B., Rico, D., Barat, J.M., Barry-Ryan, C., 2009. Orange juices enriched with chitosan: Optimisation for extending the shelf-life. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 10, 590–600.

Martinez, M.V., Whitaker, J.R., 1995. The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends Food Sci. Technol.* 6, 195–200.

Martins, F. da S., 2012. Desenvolvimento de um novo método de produção de sumo de maçã visando incrementar o teor em polifenóis e diminuir o escurecimento. Universidade Nova de Lisboa - Faculdade de Ciências e Tecnologia.

Mdluli, K.M., 2005. Partial purification and characterisation of polyphenol oxidase and peroxidase from marula fruit (*Sclerocarya birrea* subsp. *Caffra*). *Food Chem.* 92, 311–323.

Mohammadi, A., Rafiee, S., Emam-Djomeh, Z., Keyhani, A., 2008. Kinetic Models for Colour Changes in Kiwifruit Slices During Hot Air Drying. *World J. Agric. Sci.* 4, 376–383.

No, H.K., Meyers, S.P., Prinyawiwatkul, W., Xu, Z., 2007. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A review. *J. Food Sci.* 72.

- Nunes, C.S., Baptista, A.O., 2001. Implicações da reacção de Maillard nos alimentos e nos sistemas biológicos. *Rev. Port. Ciências Veterinárias* 96, 53–59.
- Oyarzabal, O.A., Nogueira, M.C., Gombas, D.E., 2003. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* in cranberry, lemon, and lime juice concentrates. *J. Food Prot.* 66, 1637–1641.
- Piljac-Žegarac, J., Valek, L., Martinez, S., Belščak, A., 2009. Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage. *Food Chem.* 113, 394–400.
- Raimbault, A.K., Marie-Alphonsine, P.A., Horry, J.P., Francois-Haugrin, M., Romuald, K., Soler, A., 2011. Polyphenol oxidase and peroxidase expression in four pineapple varieties (*Ananas comosus* L.) after a chilling injury. *J. Agric. Food Chem.* 59, 342–348.
- Rattanathanalerk, M., Chiewchan, N., Srichumpoung, W., 2005. Effect of thermal processing on the quality loss of pineapple juice. *J. Food Eng.* 66, 259–265.
- Rivas, A., Rodrigo, D., Martínez, A., Barbosa-Cánovas, G. V., Rodrigo, M., 2006. Effect of PEF and heat pasteurization on the physical-chemical characteristics of blended orange and carrot juice. *LWT - Food Sci. Technol.* 39, 1163–1170.
- Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W., 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem.* 66, 401–436.
- Rocha, A.M.C.N., Morais, A.M.M.B., 2002. Polyphenoloxidase activity and total phenolic content as related to browning of minimally processed “Jonagored” apple. *J. Sci. Food Agric.* 82, 120–126.
- Roig, M.G., Bello, J.F., Rivera, Z.S., Kennedy, J.F., 1999. Studies on the occurrence of non-enzymatic browning during storage of citrus juice. *Food Res. Int.* 32, 609–619.
- Rosdan, M., Amin, M., Ghazali, M., 2012. Physicochemical Properties of Jospine Pineapple (*Ananas Comosus*) 12–15.
- Sairi, M., Yih, L.J., Sarmidi, M.R., 2004. Chemical composition and sensory analysis of fresh pineapple juice and deacidified pineapple juice using electrodialysis. *Reg. Symp. Membr. Sci. Technol.* 21–25.
- Sanchez-Gonzalez, L., Pastor, C., Vargas, M., Chiralt, A., Gonzalez-Martinez, C., Chafer, M., 2011. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 60, 57–63.
- Sapers, G.M., 1992. Chitosan Enhances Control of Enzymatic Browning in Apple and Pear Juice by Filtration. *J. Food Sci.* 57, 1192–1193.
- Saradhulhat, P., Paull, R.E., 2007. Pineapple organic acid metabolism and accumulation during fruit development. *Sci. Hortic. (Amsterdam)* 112, 297–303.
- Selani, M.M., Bianchini, A., Ratnayake, W.S., Flores, R.A., Massarioli, A.P., de Alencar, S.M., Canniatti Brazaca, S.G., 2016. Physicochemical, Functional and Antioxidant Properties of Tropical Fruits Co-products. *Plant Foods Hum. Nutr.* 71, 137–144.
- Shamsudin, R., Ling, C.S., Adzahan, N.M., Daud, W.R.W., 2013. Rheological properties of ultraviolet-irradiated and thermally pasteurized Yankee pineapple juice. *J. Food Eng.* 116, 548–553.
- Shamsudin, R., Mohd Adzahan, N., Pui Yee, Y., Mansor, A., 2014. Effect of repetitive ultraviolet irradiation on the physico-chemical properties and microbial stability of pineapple juice. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 23, 114–120.
- Silva, T.M.G., 2015. Avaliação dos efeitos da actividade enzimática e das condições ambientais

no escurecimento em preparados de morango e estratégias para a sua minimização. Universidade Nova de Lisboa - Faculdade de Ciências e Tecnologia.

Silva, V.M., Sato, A.C.K., Barbosa, G., Dacanal, G., Ciro-Velásquez, H.J., Cunha, R.L., 2010. The effect of homogenisation on the stability of pineapple pulp. *Int. J. Food Sci. Technol.* 45, 2127–2133.

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299, 152–178.

Sinha, N.K., Sidhu, J.S., Barta, J., Wu, J.S.B., Cano, M.P., 2012. Handbook of fruit and fruit processing, Second. ed, Handbook of Fruits and Fruit Processing: Second Edition. Wiley - Blackwell.

Song, Y., Yao, Y., Xin, Zhai, H., Du, Y., Peng, Chen, F., Shu-wei, W., 2007. Polyphenolic Compound and the Degree of Browning in Processing Apple Varieties. *Agric. Sci. China* 6, 607–612.

Souza, V. G. L., Fernando, A. L., 2016. Nanoparticles in food packaging: biodegradability and potential migration to food—A review. *Food Packaging Shelf Life* 8, 63-70.

Souza, V. G. L., Fernando, A. L., Pires, J. R. A., Rodrigues, P. F., Lopes, A. A., Fernandes, F. M. B., 2017. Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants. *Ind Crops Prod.* 107, 565-572.

Tomás-Barberán, F.A., Espín, J.C., 2001. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *J. Sci. Food Agric.* 81, 853–876.

Tournas, V.H., Heeres, J., Burgess, L., 2006. Moulds and yeasts in fruit salads and fruit juices. *Food Microbiol.* 23, 684–688.

USDA, 2016. Basic Report 09274, Pineapple juice, frozen concentrate, unsweetened, undiluted [WWW Document]. URL <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2348?fgcd=&manu=&facet=&format=&count=&max=50&offset=&sort=default&order=asc&qlookup=PINEAPPLE+CONCENTRATE&ds=&qt=&qp=&qq=&qn=&q=&ing=> (accessed 2.16.17).

Valderrama, P., Maragoni, F., Clemente, E., 2001. Efeito do tratamento térmico sobre a atividade de peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em maçã (*Mallus comunis*). *Ciência e Tecnol. Aliment.* 21, 321–325.

Watts, S., Halliwell, L., 1996. Appendix 3 - Detailed field and chemical methods for soil, in: *Essential Environmental Science, Methods & Techniques*. Routledge, Londres, Reino Unido, pp. 475–505.

Wen, L., Wrolstad, R.E., 2002. Phenolic composition of authentic pineapple juice. *J. Food Sci.* 67, 155–161.

Yano, M., Kato, M., Ikoma, Y., Kawasaki, A., Fukazawa, Y., Sugiura, M., Matsumoto, H., Oohara, Y., Nagao, A., Ogawa, K., 2005. Quantitation of Carotenoids in Raw and Processed Fruits in Japan. *Food Sci. Technol. Res.* 11, 13–18.

Yeom, H.W., Streaker, C.B., Howard Zhang, Q., Min, D.B., 2000. Effects of pulsed electric fields on the quality of orange juice and comparison with heat pasteurization. *J. Agric. Food Chem.* 48, 4597–4605.

Zerdin, K., Rooney, M.L., Vermuë, J., 2003. The vitamin C content of orange juice packed in an oxygen scavenger material. *Food Chem.* 82, 387–395.

Zheng, H., Lu, H., 2011. Use of kinetic, Weibull and PLSR models to predict the retention of ascorbic acid, total phenols and antioxidant activity during storage of pasteurized pineapple

juice. LWT - Food Sci. Technol. 44, 1273–1281.

Zhou, Y., Dahler, J.M., Underhill, S.J.R., Wills, R.B.H., 2003. Enzymes associated with blackheart development in pineapple fruit. Food Chem. 80, 565–572.