



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

GILCIANE VERGOLINO AMÉRICO

**OTIMIZAÇÃO DA PASTEURIZAÇÃO DA POLPA DE JAMBOLÃO
(*SYZYGIVM CUMINI* LAMARCK)**

**BELÉM
2014**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

GILCIANE VERGOLINO AMÉRICO

**OTIMIZAÇÃO DA PASTEURIZAÇÃO DA POLPA DE JAMBOLÃO
(*SYZYGIUM CUMINI* LAMARCK)**

Dissertação de Mestrado apresentada como atividade obrigatória do Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Alessandra Santos
Lopes

Co-orientador: Prof^a. Dr^a Ana Vânia
Carvalho

**BELÉM
2014**

GILCIANE VERGOLINO AMÉRICO

**OTIMIZAÇÃO DA PASTEURIZAÇÃO DA POLPA DE JAMBOLÃO
(*SYZYGIVM CUMINI* LAMARCK)**

Dissertação de Mestrado apresentada como atividade obrigatória do Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará.

Data de Avaliação: ____/____/____

Nota: _____ Conceito: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Alessandra Santos Lopes
(PPGCTA/ITEC/UFPA – Orientador)

Prof^a. Dr^a. Ana Vânia Carvalho
(PPGCTA/ITEC/UFPA – Co-Orientador)

Prof. Dr. Rosinelson da Silva Pena
(PPGCTA/ITEC/UFPA – Membro)

Prof. Dr. Lênio José Guerreiro de Faria
(PPGEQ/ITEC/UFPA – Membro)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, por me permitir sonhar e me ajudar a concretizar mais este sonho. Obrigada por estar sempre presente Senhor.

Aos meus pais Ribamar e Durvalina por sempre me incentivarem nos meus estudos, pelas orações, amor e apoio incondicional em todos os momentos.

Aos meus queridos e amados irmãos Jaime, Gilmar, Elton, Dielson, Jaciane e Junior pelo amor sempre demonstrado, pelos incentivos e apoio aos meus estudos. Vocês são meu porto seguro.

À minha cunhada Regeane e ao sobrinho Rennan pelo carinho, apoio, paciência e por me permitirem residir no seu lar. Serei eternamente grata!

As minhas cunhadas Olivana e Margarida, ao cunhado Rinaldo, e a prima Ledaiana por sempre me darem apoio e carinho. Amo vocês!

O meu sincero e profundo agradecimento a Thaise, que foi minha Co-orientadora de consagração. Aos amigos Leilane, Silas, Nazarena, Juliana, Renato, Brenda, Telma, Glauce e Arnaldo por todo o carinho, atenção e presteza, principalmente nos momentos mais difíceis.

Aos colegas de Laboratórios pelos quais passei, obrigada pela amizade, ajuda e paciência, principalmente nos momentos das análises realizadas no escuro.

À minha orientadora Dr^a Alessandra Lopes minha extrema gratidão pela oportunidade, ensinamento, apoio e paciência prestada durante esses dois anos juntas. Meu muito obrigado!

À minha co-orientadora Dr^a Ana Vânia Carvalho pela ajuda e atenção. Aos membros da EMBRAPA pela ajuda significativa na concretização deste trabalho.

Aos membros da banca professores Dr Rosinelson Pena e Dr Lênio Faria pelas sugestões dadas para o melhoramento desta pesquisa.

Aos professores do programa PPGCTA pelos preciosos ensinamentos e a UFPA pela oportunidade concedida.

A CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

Gilciane Américo

"Foi o tempo que dedicastes à tua rosa que a fez tão importante"

(Antoine de Saint-Exupéry)

RESUMO

Os frutos de *Syzygium cumini* Lamarck, conhecido popularmente como jambolão, são fontes de antocianinas e antioxidantes. Este estudo teve como objetivo otimizar a pasteurização na polpa de jambolão, visando a inativação enzimática, a retenção dos compostos bioativos e da atividade antioxidante. Foram realizadas análises físicas do fruto de jambolão: comprimento transversal (2,49 cm), comprimento longitudinal (1,68 cm) e rendimento percentual (57,22 %); e físico-químicas da polpa de jambolão: umidade (89,43 %) cinzas (0,27 %), lipídios (0,23 %), proteínas (0,72 %), acidez (5,99 % ac. cítrico), sólidos solúveis (9,17 °Brix), pH (3,34), fenólicos totais (182,01 mgEAG.100g⁻¹), antocianinas totais (93,56 mg.100g⁻¹) e atividade antioxidante pelo método DPPH (EC₅₀=4.552,26 g/gDPPH) e ABTS (18,48 µMTrolox/g). Devido à resistência ao escoamento apresentada pela polpa de jambolão nas tubulações do pasteurizador, a polpa foi diluída e enquadrada na legislação vigente (Brasil, 2003) para suco tropical. Para o processo de pasteurização no suco tropical de jambolão foi utilizado um planejamento composto central (2²), adotadas como variáveis independentes: temperatura (°C) e tempo (s); e como variáveis de respostas: fenólicos totais, antocianinas totais, atividade antioxidante (DPPH e ABTS) e atividade enzimática (POD e PFO). Houve a completa inativação das enzimas no suco tropical de jambolão pasteurizado, exceto no tratamento com 85°C/39s para atividade da POD. As variáveis independentes e a interação das mesmas não influenciaram de maneira significativa ao nível de 95% de confiança os resultados obtidos para geração de modelos preditivos das características avaliadas, com exceção para o teor de fenólicos totais. A melhor condição para obter a máxima retenção dos compostos analisados e a completa inativação das enzimas foi 92°C/ 70s no suco tropical de jambolão pasteurizado.

Palavras- chave: Compostos bioativos, atividade antioxidante e enzimática.

ABSTRACT

The *Syzygium cumini* Lamarck fruits, popular known as jambolan, are a source of anthocyanin and antioxidant. This study aimed to optimize the thermic pasteurization of the jambolan pulp, with the purpose to inactivate the enzymes, the bioactive compounds and the antioxidant activity retention. Physical analyses: transverse length (2,49cm), longitudinal length (1,68cm) and percent yield (57,22%); and physicochemical: moisture (89.43%) ash (0.27%), lipid (0.23%), protein (0.72%), acidity (5.99% citric ac.), soluble solids (9,17 ° Brix), pH (3.34), total phenolic (182.01 mgGAE.100g-1), total anthocyanin (93.56 mg.100g-1) and antioxidant activity by DPPH method (EC50 = 4552.26 g / gDPPH) and ABTS (18,48 µMTrolox / g) were performed. Due to a resistance while trying to flow the jambolan pulp in the pasteurizer pipes, the pulp was diluted and complied with the national legislation (Brasil, 2003) for tropical juice. The methodology used was a central composite design (2²), using as independent variables: temperature (°C) and time (s), and as response variables: total phenolic compounds, total anthocyanin, antioxidant activity (DPPH and ABTS) and enzymatic activity (POD and PPO). The enzymes of the jambolan tropical juice were completely inactivated, except for POD in the test treated with 85°C/39sec. The independent variables and the interaction of them didn't influence significantly at 95% of confidence level in the results obtained to generate predictive models of the characteristics evaluated, except for the total phenolic content. The best condition to obtain a maximum retention of the compounds analyzed and the complete inactivation of the enzymes was the temperature 92°C and time 70sec for tropical juice of jambolan which was pasteurized.

Key-words: Bioactive compounds, antioxidant and enzymatic activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (a) Estrutura química dos fenólicos; (b) Estrutura química dos flavonóides..	18
Figura 2. Estrutura das antocianidinas mais comumente encontradas em alimentos.....	20
Figura 3. O mecanismo de ação da polifenol oxidase em Monofenóis e difenóis.....	23
Figura 4. Frutos de jambolão (<i>Syzygium Cumini</i> Lamarck).....	28
Figura 5. Sistema de pasteurização tubular.....	36
Figura 6. (a) Superfície de resposta quadrática e (b) curvas de nível para avaliação do teor de fenólicos totais em função do tempo e da temperatura de pasteurização no suco tropical de jambolão.....	49
Figura 7. (a) Superfície de resposta quadrática e (b) curvas de nível para avaliação do teor de antocianinas totais em função do tempo e da temperatura de pasteurização no suco tropical de jambolão.....	52
Figura 8. (a) Superfície de resposta quadrática e (b) curvas de nível para avaliação da atividade antioxidante pelo método de ABTS em função do tempo e da temperatura de pasteurização no suco tropical de jambolão.....	54
Figura 9. (a) Superfície de resposta quadrática e (b) curvas de nível para avaliação da atividade antioxidante pelo método de DPPH em função do tempo e da temperatura de pasteurização no suco tropical de jambolão.....	57
Figura 10. Perfil dos valores preditos e desejabilidade para as respostas de FT(fenólicos totais), AT (antocianinas totais), ABTS, DPPH e atividade da POD (peroxidase) no suco tropical de jambolão pasteurizado.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização do fruto de jambolão (<i>Syzygium cumini</i>).....	15
Tabela 2. Planejamento experimental completo (2^2) com as variáveis independentes e seus diferentes níveis.....	37
Tabela 3. Caracterização física dos frutos de jambolão (<i>Syzygium cumini</i>).....	38
Tabela 4. Caracterização físico-química da polpa de jambolão (<i>Syzygium cumini</i>).....	39
Tabela 5. Teor de fenólicos totais e antocianinas totais da polpa de jambolão.....	41
Tabela 6. Atividade antioxidante pelo método do DPPH e ABTS dos extratos orgânicos da polpa de jambolão.....	43
Tabela 7. As médias e desvio-padrão das análises de fenólicos totais, antocianinas, atividade antioxidante (DPPH e ABTS) e atividade enzimática (peroxidase e polifenoxidase) do suco tropical de jambolão sem (Padrão) e com pasteurização.....	45
Tabela 8. Correlação de Pearson realizada entre os compostos bioativos (fenólicos e antocianinas totais) e a atividade antioxidante total (métodos DPPH e ABTS) do suco tropical de jambolão pasteurizado.....	46
Tabela 9. Efeito estimado, erro puro, coeficiente t e significância estatística de fenólicos totais do suco tropical de jambolão pasteurizado.....	47
Tabela 10. Análise de variância (ANOVA) do modelo de regressão gerado para fenólicos totais do suco tropical de jambolão pasteurizado.....	49
Tabela 11. Efeito estimado, erro puro, coeficiente t e significância estatística das antocianinas totais do suco tropical de jambolão pasteurizado.....	50
Tabela 12. Análise de variância (ANOVA) do modelo de regressão gerado para teor de antocianinas totais do suco tropical de jambolão pasteurizado.....	51
Tabela 13. Efeito estimado, erro puro, coeficiente t e significância estatística atividade antioxidante pelo método de ABTS do suco tropical de jambolão pasteurizado.....	53
Tabela 14. Análise de variância (ANOVA) do modelo de regressão gerado para atividade antioxidante pelo método de ABTS do suco tropical de jambolão pasteurizado..	54
Tabela 15. Efeito estimado, erro puro, coeficiente t e significância estatística atividade antioxidante pelo método de DPPH suco tropical de jambolão pasteurizado.....	55
Tabela 16. Análise de variância (ANOVA) do modelo de regressão gerado para atividade antioxidante pelo método de DPPH do suco tropical de jambolão pasteurizado..	56

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.12
2 OBJETIVOS	13
2.1 GERAL	13
2.2 ESPECIFICOS	13
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1 JAMBOLÃO.....	14
3.1.1 Característica gerais.....	14
3.1.2 Composição química.....	15
3.2 COMPOSTOS BIOATIVOS	16
3.2.1 Compostos fenólicos	17
3.2.1.1 Antocianinas.....	19
3.3 ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO	21
3.3.1 Polifenoloxidase	22
3.3.2 Peroxidase	23
3.4 PASTEURIZAÇÃO	24
3.5 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E OTIMIZAÇÃO DE PROCESSOS.....	25
4 MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1 MATERIAL.....	28
4.2 MÉTODO	29
4.2.1 Avaliação física	29
4.2.2 Caracterização físico-química	29
4.2.3 Compostos bioativos.....	30
4.2.4 Determinação da atividade antioxidante.....	32
4.2.4.1 Obtenção do extrato	32
4.2.5 Caracterização da atividade enzimática.....	34
4.2.5.1 Preparação dos extratos de peroxidase e polifenoloxidase	34
4.2.6 Pasteurização	36
4.2.7 Delineamento experimental	36
4.2.8 Tratamento estatístico	37
5 RESULTADO E DISCUSSÃO.....	38
5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DO JAMBOLÃO	38
5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA POLPA DE JAMBOLÃO	39
5.3 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA DE JAMBOLÃO	41

5.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA POLPA DE JAMBOLÃO	43
5.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL DA PASTEURIZAÇÃO	44
5.5.1 Efeito da pasteurização sobre os fenólicos totais	46
5.5.2 Efeito da pasteurização sobre as antocianinas totais	50
5.5.3 Efeito da pasteurização sobre a atividade antioxidante pelo método de ABTS.....	53
5.5.4 Efeito da pasteurização sobre a atividade antioxidante pelo método de DPPH	55
5.5.5 Avaliação da pasteurização sobre a atividade enzimática (peroxidase e polifenoloxidase.....	57
5.5.6 Perfis da função desejabilidade.....	59
6 CONCLUSÃO.....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado um dos principais centros de genética de inúmeras espécies de frutas do mundo. Nativas e/ou exóticas as frutas brasileiras têm um grande potencial nutricional e econômico. No entanto, a maior parte dessa riqueza permanece subutilizada e seu potencial desconhecido (VASCO; RUALES; KAMAL-ELDIN, 2008; CLERICI; CARVALHO-SILVA, 2011; PEREIRA et al., 2012).

O *Syzygium cumini* Lamarck é conhecido popularmente como jambolão, ameixa preta, jamun, java ameixa, amora indiana, ameixa portuguesa, ameixa malabar ou ameixa roxa. O fruto apresenta uma combinação de sabores doce, levemente amargo e adstringente, e coloração roxo intenso quando maduro. Possui ácido gálico, taninos, antocianinas, entre outros componentes, que são fitoquímicos úteis no tratamento de inúmeras doenças (LIN; ZHANG, 2009; FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011; AYYANAR; SUBASH-BABU, 2012; SWAMI et al., 2012).

Poucos estudos existem sobre a composição fenólica do jambolão. Nestes frutos são encontrados vários componentes fenólicos, que podem ser taninos hidrolisáveis, flavonóis e flavanóides, além do elevado potencial antioxidante (GORDON et al., 2011).

Outro fator relevante são aqueles relacionados à perda da qualidade por deterioração de muitos produtos de origem vegetal, advindas principalmente pelas enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PFO), uma vez que participam de reações oxidativas e de degradação associadas a mudanças no sabor, cor, textura e qualidade nutricional dos alimentos (VALDERRAMA; MARANGONI; CLEMENTE, 2001).

Haja vista que o fruto é bastante perecível, o processo de pasteurização é um importante método de conservação que pode ser usado em polpas e sucos de frutos, pois visa à destruição dos microorganismos patogênicos não-esporulados e à inativação de enzimas, sem mudar de forma significativa o valor nutritivo e as características sensoriais do alimento, de modo a oferecer ao consumidor um produto seguro e com vida útil aceitável (SILVA, 2000).

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Otimizar o processo de pasteurização na polpa de jambolão, visando a inativação enzimática e a retenção dos compostos bioativos e da atividade antioxidante.

2.2 ESPECÍFICOS

- Caracterizar física e quimicamente os frutos e a polpa de jambolão;
- Estudar a influência das variáveis tempo e temperatura sobre a inativação enzimática, o teor de compostos bioativos e a atividade antioxidante da polpa de jambolão.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 JAMBOLÃO

3.1.1 Características gerais

Syzygium cumini Lamarck é conhecido como jambolão, ameixa preta ou jamun, pertence à família *Myrtaceae* e teve origem na Ásia tropical, especificamente na Índia. Seus nomes são sinônimos de *Eugenia jambolana* Lamarck e *Eugenia cumini* Druce (VEIGAS et al., 2007; BALIGA, 2011).

A árvore de jambolão atinge uma altura aproximadamente de 30 metros. Anualmente, produzem frutos alongados ou elipsóides (bagas) de coloração roxo intenso, pesam entre 2-5 g na maturação, com 2-3 cm de comprimento. Possui uma polpa carnosa rosa de sabor adstringente. Cada fruto contém uma única semente com 1 a 2 cm de comprimento, ou 2 a 5 sementes comprimidas em conjunto numa massa semelhante a uma única semente. (BENHERLAL; ARUMUGHAN, 2007; MODI et al., 2010; BALIGA, 2011; BIGONIYA; SINGH; SRIVASTAVA, 2012; SIVASUBRAMANIAM; SELVARANI, 2012).

A *Syzygium cumini* Lamarck é uma planta bastante difundida pelas suas ações farmacológicas. Pesquisas realizadas com diferentes partes do jambolão demonstram diversas propriedades medicinais, tais como atividades antidiabéticas, anti-diarréicas, anti-inflamatórias, antioxidantes e antimicrobianas, entre outras (LOGUERCIO et al., 2005; MIGLIATO et al., 2006; TEIXEIRA; FUCHS, 2006).

Os frutos exóticos de *Syzygium cumini* Lamarck são ricos em antocianinas e antioxidantes fitoquímicos que podem ter efeitos biológicos semelhantes aos demonstrados no caso do mirtilo e amora, cujas propriedades nutracêuticas estão bem documentadas. Por conseguinte, o fruto de jambolão possui um elevado potencial para obtenção de produtos de valor terapêutico ou nutracêutico (BANERJEE; DASGUPTA; DE, 2005; BENHERLAL; ARUMUGHAN, 2007).

A planta é encontrada em diversos estados das regiões sudeste, nordeste e norte do Brasil. Seu fruto possui alto rendimento, geralmente consumido *in natura*. Uma parte da produção é aproveitada pela população, entretanto uma grande parte de seus frutos é desperdiçada na época da safra, em virtude da alta produção por árvore, da curta vida útil do fruto *in natura* e, principalmente, por falta de seu aproveitamento processado, que pode ser obtido na forma de sucos, compotas, licores, vinhos, geleias,

tortas e doces (LAGO; GOMES; SILVA, 2006; LUZIA; JORGE, 2006; LAGO-VANZELA et al., 2011).

3.1.2 Composição físico-química

Vários componentes fazem parte da composição química de frutos e hortaliças, os quais conferem as características de cor, sabor e *flavor*, além dos efeitos nutricionais e nutracêuticos. Dentre os componentes majoritários presentes nos vegetais, destacam-se a água, carboidratos, lipídios, proteínas, enzimas, pigmentos, vitaminas e minerais (RODRIGUES et al., 2007).

Estudos têm demonstrado que as bagas de jambolão contêm hidratos de carbono, minerais e fitoquímicos farmacologicamente ativos, como os flavonóides, terpenos, e antocianinas (BENHERLAL; ARUMUGHAN, 2007; BALIGA, 2011; AYYANAR; SUBASH-BABU, 2012).

A Tabela 1 apresenta a comparação da caracterização físico-química do fruto de jambolão (polpa e casca) entre diferentes autores.

Tabela 1. Caracterização físico-química do fruto de jambolão (*Syzygium cumini*).

Determinações	Lago, Gomes e Silva (2006)	Benherlal e Arumughan (2007)	Paul e Shaha (2004)	Intervalo
Umidade (%)	87,75	85	77,2	77,2-87,75
Cinzas (%)	0,34	0,45	-	0,34-0,45
Lipídeos (%)	0,30	0,16	0,1	0,1-0,30
Proteínas (%)	0,67	0,66	0,6	0,6-0,67
Acidez (ac. cítrico)	5,91	-	-	-
Sólidos solúveis (°Brix)	9,00	-	-	-
pH	3,90	-	-	-
Carboidratos totais (%)	10,07	-	19,50	10,07-19,50
Açúcares redutores (%)	1,00	-	-	-
Fibra alimentares totais (%)	0,28	0,07	0,9	0,07-0,90

A polpa de jambolão possui altos teores de umidade, relativos teores de carboidratos e elevada acidez para a polpa de jambolão, além de baixos teores de proteínas, lipídios e fibras. Segundo Benherlal e Arumughan (2007) os minerais mais

abundantes em todas as partes do jambolão são Ca ($3,5 \text{ g.kg}^{-1}$) e K ($2,0 \text{ g.kg}^{-1}$), indicando que a polpa do fruto é uma fonte importante destes minerais essenciais.

3.2 COMPOSTOS BIOATIVOS

A dieta habitual fornece, além dos macro e micronutrientes essenciais, alguns compostos químicos, presentes, em sua maioria, em frutas e hortaliças, que exercem potentes atividades biológicas, tais como atividade antioxidante, modulação de enzimas de desintoxicação, estimulação do sistema imunológico, redução da agregação das plaquetas e modulação do metabolismo hormonal. Eles são chamados de compostos bioativos ou, algumas vezes, de fitoquímicos, que variam extensamente em estrutura química e função biológica, e podem desempenhar diversos papéis em benefício da saúde humana, se consumidos em níveis significativos (CARRATÙ; SANZINI, 2005).

Cada vez mais evidências sugerem que os benefícios à saúde, advindas de frutas e vegetais, são atribuídos aos compostos bioativos, tais como compostos fenólicos, flavonóides e carotenóides, vitaminas (vitamina C, folato e provitamina A), minerais (potássio, cálcio e magnésio) e fibras. Dessa forma, o consumo de frutas deve ser estimulado (MANACH et al., 2004; LIU, 2013).

Entre os compostos que possuem propriedades funcionais, aqueles que apresentam atividade antioxidante têm recebido uma atenção significativa, ao fato de atuarem na proteção do corpo humano contra o estresse oxidativo e prevenção de doenças crônicas degenerativas (RUFINO et al., 2009).

Os antioxidantes podem ser definidos como qualquer substância que, presente em baixas concentrações, quando comparada à do substrato oxidável, retardam ou inibem significativamente a oxidação do substrato oxidável, diminuindo a velocidade de reação ou prolongando a sua estabilidade oxidativa (MOURE et al., 2001).

Rufino et al. (2010), em estudo com dezoito frutos não tradicionais do Brasil, afirmaram que o jambolão apresentou um valor superior de atividade antioxidante equivalente a 3025 g/g DPPH , em comparação com alguns frutos analisados, como o açaí (4264 g/g DPPH). Segundo Faria, Marques e Mercadante (2011) esses efeitos antioxidantes são, muito provavelmente, relacionadas à presença de compostos bioativos, tais como os compostos fenólicos.

3.2.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos, nas formas simples ou em polímeros. Esses compostos podem ser naturais ou sintéticos. Quando presentes em vegetais podem estar na forma livre ou complexada a açúcares e proteínas. Dentre eles, destacam-se os flavonóides, os ácidos fenólicos, os taninos e os tocoferóis, como os antioxidantes fenólicos mais comuns de fonte natural (ANGELO; JORGE, 2007).

Fenólicos são metabólitos secundários que exercem funções essenciais na reprodução e no crescimento das plantas. Eles agem como mecanismos de defesa contra agentes patogênicos, parasitas e predadores. Ainda fornecem benefícios à saúde, associados com a redução do risco de doenças crônicas (LIU, 2004).

Além do exposto acima, os fenólicos também são relevantes em termos de sabor em alimentos, podem desempenhar um papel no gosto doce e amargo, picante ou adstringente em alguns produtos, e também contribuir para o aroma. Deste ponto de vista, os fenólicos desempenham um papel importante nos alimentos derivados de vegetais, uma vez que afetam as características de qualidade, tais como a aparência, o sabor e as propriedades de promoção à saúde (TOMÁS-BARBERAN; ESPÍN, 2001).

Segundo Manach et al. (2004) os fenólicos podem ser classificados, com base em sua estrutura e na forma pela qual os anéis fenóis ligam-se uns aos outros, em diferentes grupos: ácidos fenólicos, flavonóides, estilbenos e lignanas (Figura 1a). Os flavonóides, que partilham uma estrutura comum, consistem em dois anéis aromáticos ligados entre si por três átomos de carbono formando um heterociclo oxigenado. Estes podem ser divididos em 6 subclasses em função do tipo de heterociclo envolvido: flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas e flavanóis (catequinas e proantocianidinas) (Figura 1b). Além dessa diversidade, os fenólicos podem ser associados com vários carboidratos e ácidos orgânicos ou ligados um ao outro.

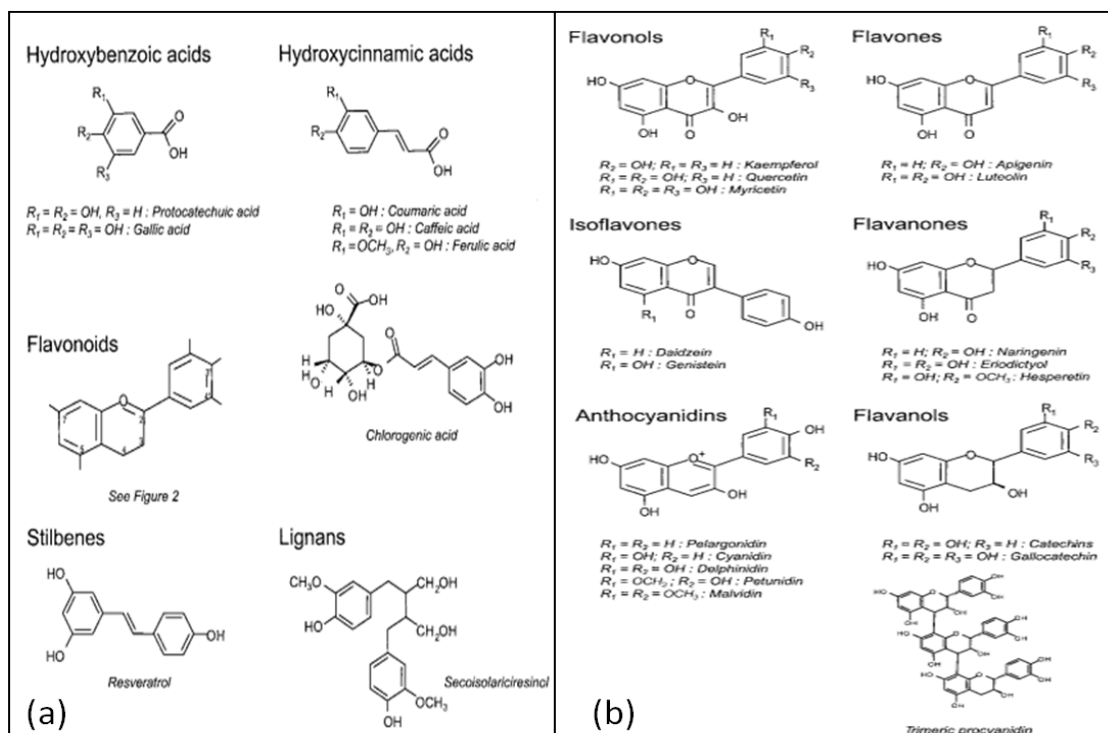


Figura 1. (a) Estrutura química dos fenólicos; (b) Estrutura química dos flavonóides.
Fonte: MANACH et al., 2004.

Dentre os fitoquímicos presentes em frutos, os compostos fenólicos merecem destaque, devido à sua atividade antioxidante. A capacidade de inativação dos radicais livres desses compostos vem sendo atribuída à presença de grupamentos hidroxilas (OH^-), que possuem capacidade de se ligar a radicais livres presentes no organismo, impedindo sua ação, a qual pode causar danos e/ou oxidação de componentes de células (SEVERO et al., 2009).

A atividade antioxidante do jambolão se destaca entre as propriedades medicinais que apresenta, sendo decorrente da presença de compostos fenólicos, como é o caso de ácidos fenólicos, como o ácido elágico, os flavonóides, como a quercitina e a rutina, e antocianinas, como 3-delfinidina-glicosídeo, 3-petunidina-glicosídeo e 3-malvidina-glicosídeo (LIMA et al., 2007; FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011).

Migliato et al. (2007), com o objetivo de obter o conhecimento dos compostos fenólicos presentes nos frutos de *Syzygium cumini*, identificaram, com base em análise fitoquímica preliminar, a presença de taninos, flavonóides, antocianinas, iridóides, alcalóides e heterosídeos fenólicos simples.

Nos estudos de Pereira et al. (2012), através de triagem fitoquímica, foram encontrados, na maioria dos extratos do fruto, ácidos orgânicos, açúcares redutores, taninos, flavonóides e glicosídeos cardioativos.

Na literatura, os teores de fenólicos totais do fruto de jabolão, correspondente a porção comestível (polpa e casca), oscilaram de 148 a 390 mgGAE/100g (peso fresco). O conteúdo de fitoquímicos nos frutos pode ser afetado pelo grau de maturação e condições ambientais durante a colheita, por diferenças genéticas entre cultivares, pela manipulação dos frutos e por condições de estocagem pós-colheita. (LUXIMON-RAMMA; BAHORUN; CROZIER, 2003; BENHERRAL; ARUMUGHAN, 2007; FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011).

3.2.1.1 Antocianinas

As antocianinas são amplamente distribuídas em plantas, normalmente acumulam-se nos vacúolos das células epidérmicas e sub-epidérmicas, contribuindo para as cores azul, vermelho ou roxo em folhas, flores e frutos. Nesse contexto, as antocianinas têm sido amplamente estudadas como aditivos naturais em alimentos, além de apresentarem excelentes propriedades funcionais para a saúde humana (STEYN et al., 2002; KONG et al., 2003; WROLSTAD, 2004; RUI et al., 2011).

As antocianinas são pigmentos fenólicos, os quais normalmente fazem ligações com porções de açúcar, sendo o grupo mais importante de compostos hidrossolúveis. As formas comuns encontradas em alimentos são glicosídeos e acilglicosídeos de seis antocianidinas, também chamadas de agliconas (BRITO et al., 2007; GAMARRA et al., 2009; RUI et al., 2011).

A forma aglicona das antocianinas está estruturalmente baseada no íon flavílio ou 2-fenilbenzopirílio. Apresenta grupos hidroxilas e metoxilas em diferentes posições. Dependendo do número e posição dos substituintes de hidroxilas e metoxilas algumas dezenas de diferentes antocianidinas foram descritos na literatura, das quais seis são comumente encontrados em frutas e vegetais: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina (Figura 2) (TERESA; BALLESTA, 2008; GAMARRA et al., 2009).

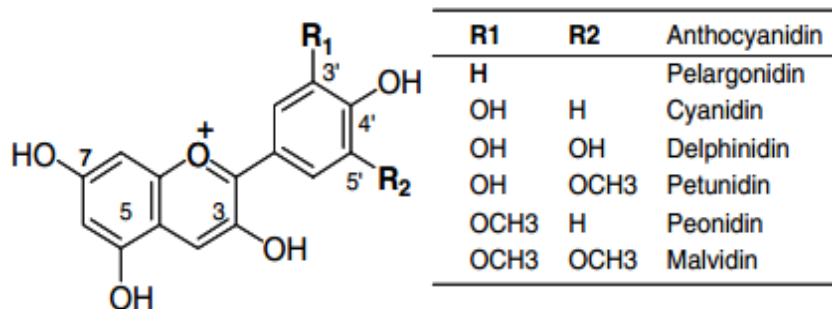


Figura 2. Estrutura das antocianidinas mais comumente encontradas em alimentos.

A cor púrpura do fruto de jambolão é atribuída às antocianinas presentes, que atraem bastante atenção, devido aos potenciais benefícios a saúde advinda destes compostos (LI; ZHANG; SEERAM, 2009). Veigas et al. (2007) relataram a alta atividade antioxidante do extrato de jambolão em concentrações extremamente baixas, evidenciando o fruto como uma fonte potencial de antioxidantes, além de elucidarem o seu potencial como corante natural. As antocianinas do jambolão, como todas as outras, possuem a vantagem da alta solubilidade em misturas aquosas, que facilitam a sua incorporação em formulações de vários produtos alimentares ou não, como os produtos farmacêuticos.

Vários estudos sobre o fruto revelaram que as principais antocianinas presentes são 3-delfinidina-glicosídeo, 3-petunidina-glicosídeo e a 3-malvidina-glicosídeo (VEIGAS, 2007; RUFINO et al., 2010; FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011).

A estrutura química das antocianinas determina a estabilidade, a intensidade da cor e o potencial da atividade biológica. As mesmas são relativamente instáveis e facilmente oxidadas por vários fatores, tais como temperatura, pH e composição atmosférica, os quais provocam mudanças na cor. Também são afetadas pela presença no meio de dióxido de enxofre, enzimas, ácido ascórbico ou íons metálicos entre outros componentes (GIUSTI; WROLSTAD, 2003; TERESA; BALLESTA, 2008).

Os resultados das análises espectrofotométricas, realizados por Veigas et al. (2007), na casca do jambolão revelaram teor de antocianinas de 216 mg/100ml equivalente a 230 mg/100g do fruto, em base seca. Este teor é equivalente aos encontrado no mirtilo e nas groselhas pretas, que apresentaram teores de 230 e 229 mg/100g em base seca, respectivamente, e são 1,6 vezes mais elevada do que amoras pretas(141 mg/100g) (MOYER et al., 2002).

O mirtilo e a amora foram considerados como principais produtos nutracêuticos de grande valor comercial. Uma vez que, as árvores de *Syzygium cumini* são perenes e com elevado rendimento das bagas, as informações de Veigas et al. (2007) parecem complementar, em parte, a aplicação do fruto em produtos nutracêuticos.

3.3 ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO

As enzimas e os fenólicos são encontrados em diferentes organelas das células vegetais. Quando o tecido é danificado, a compartimentação das membranas é rompida e os substratos se encontram e reagem uns com os outros, que podem resultar na reação do escurecimento enzimático dos frutos (ALTUNKAYA; GOKMEN, 2008; SUN et al., 2012).

Dessa forma, uma das principais preocupações na indústria de alimentos é prevenir o desenvolvimento do escurecimento enzimático, antes ou durante o processamento de frutas e legumes. Nesse contexto, duas enzimas são relevantes nesse processo por causarem degradação oxidativa dos compostos fenólicos: a polifenoloxidase (PFO) e a peroxidase (POD), uma vez que promovem a produção de polímeros de coloração marrom (melaninas). As melaninas provocam uma resposta adversa dos consumidores, devido à alteração nas propriedades sensoriais e estéticas do produto, bem como uma perda da qualidade nutricional, por ocasionarem à diminuição do conteúdo de compostos fenólicos (TOMÁS-BARBERÁN; SPÍN, 2001).

O escurecimento enzimático começa com a oxidação enzimática inicial de fenóis, na presença de oxigênio, pela enzima polifenoloxidase, em quinonas. Estas são submetidas a outras reações, catalisadas por meios enzimáticos ou não, que conduzem à formação de pigmentos escuros, as melaninas (ÖZOGLU; BAYMDIRH, 2002).

O grau de escurecimento enzimático é determinado pela atividade da enzima PFO, conteúdo de compostos fenólicos, disponibilidade de oxigênio, pH e temperatura (MARTINEZ; WHITAKER, 1995).

A inativação enzimática é um recurso que pode ser bastante utilizado na indústria de alimentos com o objetivo de conservar o produto. Tal inativação pode ser feita tanto pela adição de inibidores, quanto por tratamento térmico ou combinação de ambos. Alguns dos inibidores utilizados são o ácido ascórbico, o metabissulfito de sódio e o cloreto de cálcio. Quando é empregado o calor na inativação é necessário controlar o tempo para uma determinada temperatura a fim de evitar danos na estrutura do fruto ou no produto final (SILVA; ROSA; BOAS, 2009).

3.3.1 Polifenoloxidase

Polifenoloxidases (PFO) (1,2 benzenodiol: oxigênio oxidorreductase; EC 1.10.3.2) são enzimas que contém cobre, as quais são também conhecidas como catecol oxidases, catecolases, difenoloxidases, fenolases, polifenolases e tirosinases (MARTINEZ; WHITAKER, 1995).

As polifenoloxidases são enzimas que contém no seu centro nuclear moléculas de cobre capazes de introduzir oxigênio numa posição orto para um grupo hidroxila existente em um anel aromático, seguido pela oxidação do difenol da quinona correspondente. O oxigênio molecular é utilizado na reação. A estrutura do sítio ativo da enzima, em que o cobre está ligado por seis ou sete resíduos de histidina e um único resíduo de cisteína, é altamente conservada. A nomenclatura da enzima diferencia entre oxidase monofenol (tirosinase, EC 1.14.18.1) e catecol oxidase ou *o*-difenila: oxidorreductase oxigênio (EC 1.10.3.2) (MAYER, 2006).

O mecanismo do escurecimento envolve a interação de substratos fenólicos com PFOs, na presença de oxigênio (Figura 3). As polifenoloxidases catalisam duas reações: (1) hidroxilação de monofenóis a *o*-difenóis e (2) a oxidação de *o*-difenóis a *o*-quinonas. A reação de hidroxilação é lenta e resulta em produtos incolores, enquanto que a reação de oxidação é rápida e as quinonas resultantes são coloridas. Essas quinonas, por serem muito reativas, interagem com outras moléculas, e sofrem reações posteriores que levam à acumulação de melanina, que é o pigmento castanho ou preto associado a "escurecimento" em tecidos de plantas. A sequência de reação específica que resulta em produtos de coloração castanhos ou pretos depende da estrutura específica do substrato fenólicos (KAVRAYAN; AYDEMIR, 2001; EIDHIN; MURPHY; O'BEIRNE, 2005; TOIVONEN; BRUMMELL, 2008).

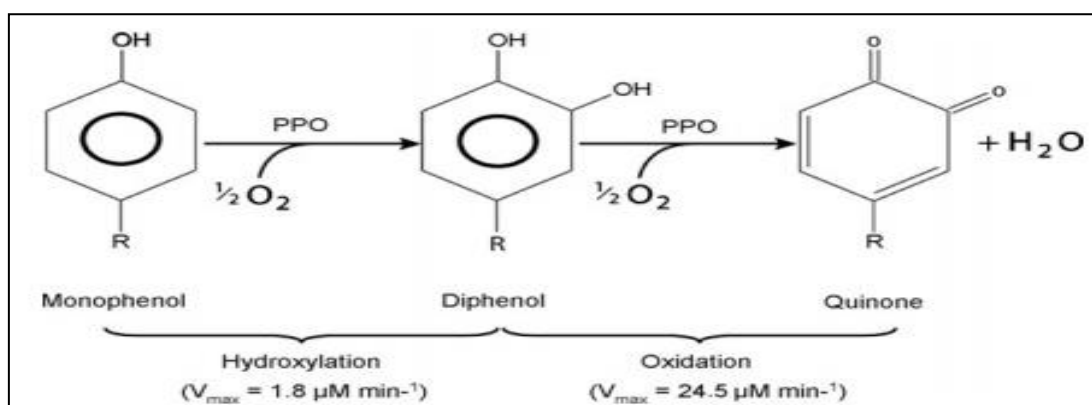


Figura 3. O mecanismo de ação da polifenoloxidase em monofenóis e difenóis.

Os valores V_{max} são baseados na atividade da tirosinase de cogumelo sobre a monofenol μ -tirosina e o resultante difenol μ -DOPA conforme relatado por Espin et al. (2000).

As PFO apresentam especificidade de substrato pouco estrita e são enzimas procedentes de distintas fontes e diferem em sua atividade relativa diante de substratos específicos. Isso explica, em parte, porque alguns vegetais escurecem mais rapidamente que outros (SILVA; ROSA; BOAS, 2009).

3.3.2 Peroxidase

Peroxidasas (POD) (EC 1.11.1.7) são enzimas que contêm heme de ferro (III) protoporfirina IX (ferriprotoporfirina IX) como o grupo protéico. Pertencem ao grupo das oxirredutases que catalisam a redução de peróxidos, tais como peróxido de hidrogênio, juntamente com a oxidação de uma variedade de compostos orgânicos e inorgânicos. Os substratos que atuam como doadores de hidrogênio podem ser fenóis, aminas, ou outros compostos orgânicos, e os produtos formados dependem da fonte destes substratos (SOYSAL; SOYLEMEZ, 2005; HAMID; REHMAN, 2009).

As POD são onipresentes na natureza e têm diversas funções fisiológicas, incluindo a remoção de H_2O_2 , a biossíntese e degradação de lignina na parede celular, metabolismo de auxina e respostas defensivas a ferimento e defesa contra patógenos ou insetos (GARCÍA-LARA et al., 2007).

Enzimas peroxidases são capazes de catalisar um grande número de reações oxidativas em vegetais usando peróxido como substrato, ou, em alguns casos, oxigênio como um acceptor de hidrogênio. As POD são consideradas as enzimas vegetais mais estáveis ao calor e suas inativações têm sido convencionalmente usadas como indicador de adequação de branqueamento em processamentos de vegetais (FREITAS et al., 2008).

A inibição e/ou controle das alterações metabólicas ocasionadas pelas enzimas é de vital importância para a redução das perdas de pós-colheita e manutenção do padrão de qualidade no produto final (ALVARENGA et al., 2011).

3.4 PASTEURIZAÇÃO

Desde a descoberta do fogo, o homem usa o calor para preparar e preservar os alimentos. Durante a transição do século XVIII ao XIX, quando Nicolás Appert,

confeiteiro francês, observou que os alimentos aquecidos em recipientes fechados podiam se conservar durante longo tempo se o recipiente não fosse aberto, admite-se a invenção desse tipo de processamento que ficou conhecido como apertização (ORDONEZ, 2005).

O uso de calor para conservar alimentos visa à redução da carga microbiana e a desnaturação de enzimas. Vários tipos de tratamentos térmicos podem ser aplicados dependendo da termossensibilidade do alimento e da sua suscetibilidade à deterioração, bem como da estabilidade requerida do produto final. (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998).

O processo de pasteurização surgiu originalmente na França como método de conservação de vinhos por Louis Pasteur em 1864 e se expandiu no início do século XX para preservação do leite que foi introduzido originalmente na Alemanha em 1895 (SMIT, 2000). O avanço científico de Pasteur melhorou a qualidade de vida ao permitir que produtos pudessem ser transportados sem sofrer decomposição. A pasteurização tornou-se o método mais utilizado para conservação de alimentos, incluindo polpas de frutas (EVANGELISTA, 2003).

A pasteurização é muito comum na indústria de alimentos. Tem como objetivo reduzir a carga microbiana e inativar a maior parte das enzimas presentes, que podem provocar alterações indesejáveis nos produtos, como afetar a claridade, o sabor por fermentação e/ou deterioração, etc. Assim, o tratamento de pasteurização proporciona um aumento da estabilidade e da vida de prateleira do produto final (UMME et al., 1999; PELAIS; ROGEZ; PENA, 2008).

O processo de pasteurização baseia-se no calor que é gerado no exterior de um alimento e, em seguida, transferido para o alimento através de mecanismos de condução e convecção (PEREIRA; VICENTE, 2010). O tratamento usa temperaturas abaixo de 100°C por um determinado tempo (binômio tempo/temperatura), que depende da flora microbiana presente no produto inicial, e deve ser cuidadosamente dimensionado para garantir um período mínimo necessário a destruição dos microorganismos presentes. Além disso, deve-se buscar minimizar os danos térmicos causados aos componentes físico-químicos e atributos sensoriais do produto, tais como cor, sabor, textura e sabor (BERTO; SA; SILVEIRA JR, 2004).

Na indústria alimentícia, a pasteurização é o tratamento térmico mais empregado na conservação de sucos de frutas que apresentam pH igual ou menor que 4,5. Tradicionalmente, os sucos são pasteurizados a temperaturas variando entre 60 e

100 °C, durante poucos segundos. Geralmente, quanto maior for a temperatura e menor o tempo de processamento, melhores são os resultados, tanto na inativação microbiana, quanto na preservação dos componentes do produto. Durante a pasteurização, ocorre uma grande transferência de energia para o alimento e, em alguns casos, pode haver o desenvolvimento de reações indesejáveis (RIVAS et al., 2006).

O processo de pasteurização não inativa todos os microorganismos presentes, portanto algumas condições de controle adicionais devem se fazer necessárias, tais como estocagem sob refrigeração, redução da acidez, redução da atividade de água, ou qualquer método de conservação e preservação, dependendo do produto final desejado (POTTER; HOTCHKISS, 1995).

A inativação das enzimas pelo tratamento térmico pode servir como parâmetro para obtenção de produtos seguros, uma vez que a resistência térmica de lactobacilos, fungos filamentosos e leveduras são menores que das enzimas, como a peroxidase e a polifenoloxidase (SUGAI, 2002; FREITAS et al., 2008).

Teixeira, Neves e Pena (2006) em seus estudos sobre pasteurização de polpa de graviola, relataram redução da atividade da peroxidase e da concentração de bactérias, bolores e leveduras, a níveis aceitáveis, e a manutenção da cor, demonstrando a eficiência do processo térmico. A manutenção destes parâmetros a níveis aceitáveis, durante a estocagem, confirmou a aplicabilidade do processo, sem a necessidade da adição de conservante na polpa. A pasteurização a 80°C ou 90°C, mostrou-se como um tratamento térmico adequado para a conservação do produto, durante 120 dias de vida de prateleira à temperatura ambiente (25°C).

Apesar das melhorias no tratamento térmico, a aplicação da pasteurização, mesmo mínimo, ainda pode causar perdas de qualidade, incluindo a degradação nutricional, bem como sensoriais, que afetam o sabor, a textura, a cor e componentes e/ou características sensíveis ao calor (GUNES; BLUM; HOTCHKISS, 2005). Oetterer, Regitano-D'arce e Spoto (2006) relatam que a pasteurização deve ser utilizada quando tratamentos mais rigorosos poderiam afetar as propriedades sensoriais e nutritivas do produto.

3.5 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E OTIMIZAÇÃO DE PROCESSOS

Planejamento experimental consiste em uma série de técnicas utilizadas para explorar varias condições de funcionamento de um processo com o objetivo de

encontrar: mais baixos custos de matéria-prima, de processo e produto; desempenho melhorado; menor variabilidade ou maior capacidade de produção (HUBBARD, 2003).

O delineamento composto central (DCC) é um dos mais populares delineamentos para o ajuste de modelos de até segunda ordem (MYERS; MONTGOMERY, 1995). O DCC tem sido bastante utilizado em pesquisas conduzidas em tecnologia industrial, biologia, agronomia, medicina, química etc. Foi introduzido por Box e Wilson (1951), no estudo de superfície de respostas, como uma evolução do planejamento 3^k (k =número de fatores).

O DCC é um delineamento simétrico e de segunda ordem, constituído de duas partes: o fatorial 2^k , com um ou mais pontos centrais, e a parte axial. É considerado um delineamento ótimo e possui características interessantes para a busca do ponto que dê a resposta ótima, que são: um número menor de tratamentos em relação aos fatoriais completos e pode ser realizado sequencialmente (MATEUS et al., 2001).

A natureza sequencial desse delineamento é claramente observada. Os pontos fatoriais contribuem para a estimativa dos termos lineares e interações entre os fatores e os pontos centrais informam sobre a existência de curvatura no sistema. Caso a curvatura seja encontrada, a adição dos pontos axiais permite de forma eficiente uma estimativa dos termos quadráticos (MENDONÇA, 2012).

No planejamento de experimentos, onde o principal objetivo é caracterizar a relação entre uma ou mais variáveis resposta e um conjunto de fatores de interesse, procura-se construir um modelo que descreva a variável resposta em função de intervalos estudados desses fatores. Então, por meio da MSR (Metodologia de superfície de resposta), é possível aproximar um modelo empírico a uma relação (inicialmente desconhecida ou conhecida) entre fatores e a resposta do processo. Essa função que relaciona tais variáveis é chamada de superfície de resposta.

A MSR é uma das técnicas mais utilizadas para a otimização estatística de experimentos, que implica na representação de superfície em três dimensões, provavelmente pela sua compreensão teórica, alta eficiência e simplicidade, demonstrando de forma simples, uma tendência na variável resposta que deve ser analisada criteriosamente (SCIPIONI, 2011).

Esta técnica tem duas etapas distintas – modelagem e deslocamento – que são repetidas tantas vezes quantas forem necessárias, com o objetivo de atingir uma região ótima da superfície investigada. A modelagem normalmente é feita ajustando-se modelos simples (em geral, lineares ou quadráticos) a respostas obtidas com

planejamentos fatoriais. O deslocamento se dá sempre ao longo do caminho de máxima inclinação de um determinado modelo, que é a trajetória na qual a resposta varia de forma mais pronunciada (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

Após a determinação da região de interesse, busca-se um detalhamento desta área visando obter as condições nas quais a resposta será otimizada. O ponto ótimo pode ser determinado por inspeção, no caso em que o número de variáveis é pequeno, ou, caso contrário, por otimização numérica.

A otimização de processos ou produtos torna-se de difícil solução, em razão do complicado processo computacional, quando esta envolvida um número significativo de resposta (múltiplas respostas) e/ou a inspeção da região ótima não é facilmente identificada pela sobreposição das superfícies de respostas.

A técnica de otimização simultânea se baseia na transformação de uma função de desabilidade para cada variável resposta, com valores descritos entre 0 e 1, onde 0 representa um valor completamente indesejável e a resposta transformada em 1 o valor mais desejável. Diferentes tipos de funções de desabilidade (d ou D) podem ser utilizados e dependem da resposta que se deseja obter, ou seja, se a mesma deve ser maximizada, minimizada ou mesmo assumir um valor intermediário.

Depois de transformar os valores previstos das variáveis dependentes em diferentes combinações de níveis das variáveis em um valor predito de desabilidade individual, a desabilidade global dos resultados em diferentes combinações de níveis preditos das variáveis pode ser calculada.

O problema da otimização simultânea de diversas variáveis resposta, em seguida, resume-se a selecionar os níveis dos fatores, aqueles que maximizem a conveniência geral das respostas sobre as variáveis dependentes. Assim chegaremos a vários conjuntos de condições otimizadas, dentre os quais poderemos selecionar a que melhor nos convier (SCIPIONI, 2011).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Os frutos de jambolão foram provenientes da zona rural do município de Mocajuba-PA, localizada nas coordenadas geográficas: 02°35'03''S e 49°30'26'W. Foram colhidos aproximadamente 9 kg dos frutos (Figura 4), e em seguida congelados, exceto os 100 frutos que foram separados para a posterior análise física, e conduzidos, por meio do transporte rodoviário, em embalagens termicamente fechadas, para o Laboratório de Fontes Amiláceas e Produtos Açucarados (LAFAMI) da Universidade Federal do Pará, em Belém-PA, para os devidos procedimentos posteriores.



Figura 4. Frutos de jambolão (*Syzygium Cumini* Lamarck).

Foto: Américo, 2014.

Os frutos inteiros foram selecionados e descartados aqueles que apresentavam injúrias mecânicas e os que se encontravam imaturos ou em fase de senescência avançada. Em seguida, foi realizada uma pré-lavagem e sanitização com imersão em solução à base de cloro, na concentração de 100 mg.L⁻¹ de cloro ativo por litro de água potável, durante 15 minutos, com posterior enxague. Após o enxague, realizou-se o despulpamento manual dos frutos para a separação da porção comestível (polpa/casca) da semente. A polpa extraída foi pesada, em balança analítica marca Shimadzu (modelo: AY220) e embalada em sacos de polietileno em pequenas quantidades, de aproximadamente 20 g cada, sendo revestidas com papel alumínio, e finalmente armazenadas sob congelamento à -18 °C até a realização das análises.

Não foi possível a realização da pasteurização na polpa de jambolão integral, em virtude da resistência ao escoamento através da tubulação do pasteurizador disponível pra este estudo. Diante desta condição, definiu-se diluir a polpa na proporção de 76% de polpa e 24% de água potável, com posterior peneiramento (MESH TYLER

12-Abertura 1,40mm) para remoção de material fibroso. O produto obtido desta diluição enquadrou-se na legislação vigente (Brasil, 2003) para Suco Tropical, sendo caracterizado como o produto obtido pela dissolução, em água potável, da polpa da fruta polposa de origem tropical, por meio de processo tecnológico adequado, não fermentado, e cor, aroma e sabor característicos da fruta, submetido a tratamento que assegure sua conservação e apresentação até o momento do consumo, cuja quantidade mínima de polpa, deve conter um mínimo de 50% (m/m) da respectiva polpa.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Avaliação física

A análise física individual foi realizada no LAFAMI da Universidade Federal do Pará, Belém-PA, com 100 frutos frescos de jambolão. Foram determinadas as características morfométricas (diâmetro longitudinal e transversal) do fruto inteiro com o auxílio de um paquímetro (marca WORKER) e os resultados expressos em centímetros. O rendimento, expresso em percentual (%), foi calculado a partir da Equação 1.

$$R = \frac{P_c \cdot 100}{P_f} \quad (1)$$

Onde: R: Rendimento; P_c: Peso do componente determinado; P_f: Peso do fruto inteiro.

4.2.2 Caracterização físico-química

Todas as análises físico-químicas da polpa bruta do jambolão foram realizadas em triplicata e seus resultados expressos em base seca (b.s.):

Umidade

A determinação da umidade foi realizada por método gravimétrico, por secagem em estufa a 105°C, até peso constante, sendo os resultados expressos em porcentagem (%), de acordo com o método 920.151 da AOAC (2002).

pH

Foi determinado em potenciômetro, previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0, de acordo com o método 943.15 da AOAC (2002).

Acidez titulável total

Foi determinada por titulação com NaOH 0,1 N, com o auxílio de um pHMETRO, de acordo com o método 942.15 da AOAC (2002).

Proteínas

As proteínas foram determinadas pelo método Kjeldahl, que consiste na determinação do nitrogênio total, recomendado pelo método 920.152 da AOAC (2002). Para a conversão do nitrogênio em proteína foi utilizado o fator 6,25,

Lipídios Totais

O teor de lipídios totais foi determinado por extração em *Soxhlet* segundo o método 922.06 da AOAC (1997);

Cinzas

As cinzas foram determinadas gravimetricamente, por calcinação da amostra a 550°C, de acordo com o método 940.26 da AOAC (2002).

Sólidos solúveis

Os Sólidos solúveis (SS) foram determinados pela leitura direta em refratômetro digital, sendo os resultados expressos em °Brix, de acordo com o método nº 932.12 da AOAC (2002).

4.2.3 Compostos bioativos

Fenólicos totais

O teor dos fenólicos totais foi determinado segundo o método descrito por Singleton e Rossi (1965), que se baseia na reação com o reagente de Folin-Ciocalteu. A extração dos compostos fenólicos da polpa foi realizada com solução aquosa de acetona 70% (v/v). A mistura foi deixada sob agitação magnética por 30 minutos (na

ausência de luz). O extrato obtido foi filtrado e, posteriormente, diluído em água destilada a fim de corrigir a concentração de acetona para 7%, obtendo-se o extrato bruto.

Uma alíquota de 0,5 mL do extrato foi submetida à reação com 2,5 mL de Folin-Ciocalteu e, após 2 minutos de repouso em temperatura ambiente, foram adicionados 2,0 mL de solução aquosa de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 7,5% (m/v). A mistura foi levada ao banho-maria a 50 °C por 15 minutos e, em seguida, ao banho de gelo por 15 segundos. Para o branco, a alíquota de extrato foi substituída pela mesma quantidade de acetona 7%. A quantificação foi feita por leitura espectrofotométrica a 760 nm.

Ácido gálico foi utilizado para obtenção da curva padrão. O teor de compostos fenólicos totais foi expresso em mg de ácido gálico equivalente/100 g (b.s.).

Antocianinas totais

A determinação das antocianinas totais foi realizada de acordo com o método de Fuleki e Francis (1968), posteriormente revisada por Lees e Francis (1972). Procedeu-se agitação mecânica por 2 minutos de aproximadamente 2 gramas de amostra e solução extratora, preparada com etanol 95%:HCl 1,5N (85:15, v/v), na proporção de uma parte da polpa triturada para quatro partes da solução extratora (1:4). Após maceração por uma noite em temperatura ambiente (30°C), na ausência de luz, os extratos foram filtrados em papel filtro Whatman nº 1, e o resíduo lavado repetidamente com o etanol acidificado, até extração completa das antocianinas. A solução resultante foi completada para volume desejado e deixada em repouso por 2 horas, ao abrigo da luz e a temperatura ambiente, para estabilização das formas antocianínicas. Posteriormente foi realizada leitura em espectrofotômetro UV-visível em comprimento de onda 535 nm.

As análises foram realizadas em triplicata e para cálculo da concentração utilizou-se a Equação 2, proposta por Fuleki e Francis (1968):

$$\text{AT (mg.100g}^{-1} \text{ de amostra)} = \frac{\text{Abs.}\lambda_{\text{máx}} \times \text{Fd} \times 100}{E_{1\%}^{1\text{cm}}_{535 \text{ nm}}} \quad (2)$$

Onde: AT: Antocianinas totais; $\text{Abs.}\lambda_{\text{máx}}$: Absorbância no comprimento de onda máximo (535 nm); Fd: Fator de diluição; $E_{1\%}^{1\text{cm}}_{535 \text{ nm}}$ (absortividade molar a 535 nm): 98,2.

4.2.4 Determinação da atividade antioxidante total

A determinação da atividade antioxidante total (ATT) foi realizada pela captura do radical livre DPPH e ABTS.

4.2.4.1 Obtenção do extrato

Para obtenção do extrato, a amostra foi pesada em béquer e homogeneizada com 40 mL de metanol/água (50:50 v/v), permanecendo em repouso por 1 hora à temperatura ambiente. A mistura foi centrifugada a 11.000 rpm durante 20 minutos e o sobrenadante transferido para um balão volumétrico âmbar de 100 mL. Em seguida, adicionou-se 40 mL de acetona/água (70:30 v/v) ao resíduo da primeira extração, permanecendo em repouso por 1 hora à temperatura ambiente, seguido de centrifugação a 11.000 rpm durante 20 minutos. O sobrenadante foi transferido para o balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante e o volume completado para 100 mL com água destilada. Os extratos foram filtrados utilizando papel filtro Whatman n° 6 e acondicionados em frascos de vidro âmbar.

Método DPPH

A atividade antioxidante pelo método DPPH (2,2-Difenil-1-picril-hidrazil) foi determinada de acordo com o procedimento proposto por Rufino et al. (2007). No ensaio ocorre a captura do radical DPPH pelos antioxidantes presentes na amostra, produzindo decréscimo da absorvância a 515 nm. Esse método foi idealizado por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) e modificado por Sánchez-Moreno, Larrauri e Saura-Calixto (1998), introduzindo os parâmetros cinéticos: EC₅₀ (quantidade de antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH•) e t_{EC50} (tempo que essa concentração necessita para reduzir em 50% a quantidade inicial do radical) e a eficiência antirradical (AE) = 1/(EC₅₀ * t_{EC50}).

A partir da solução inicial de DPPH (60 µM) foram preparadas em balões volumétricos de 10 mL soluções variando a concentração de 10 a 60 µM. Posteriormente, foram utilizadas todas as concentrações para geração da curva, obtendo-se suas absorvâncias no espectrofotômetro a 515 nm, utilizando metanol como branco.

Foi gerada uma cinética para determinar o tempo de estabilização da absorvância para a amostra. Nessa etapa, foram preparadas em tubos de ensaio três diluições diferentes do extrato para as amostras adicionando-se, em seguida, 3,9 mL do

radical DPPH. O decréscimo da absorvância a 515 nm foi monitorado a cada minuto até sua estabilização. As absorvâncias obtidas foram comparadas com um controle em branco, sem antioxidantes.

Determinado o tempo de estabilização, foram preparadas três diluições diferentes em triplicata, a partir do extrato obtido no item 4.2.4.1. Uma alíquota de 100 μ L de cada diluição foi adicionada a 3,9 mL de solução metanólica contendo 0,06 mM de DPPH. Todas as determinações foram acompanhadas de um controle feito substituindo-se o volume do extrato por igual volume do solvente utilizado na extração. A leitura da absorvância final para o cálculo do EC₅₀ foi feita após a estabilização da absorvância (tempo EC₅₀).

A atividade antioxidante foi expressa como a concentração de antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH (EC₅₀). O decréscimo da absorvância do DPPH foi expresso como g de polpa/g de DPPH (b.s).

Método ABTS

A atividade antioxidante pelo método ABTS 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) desenvolvido por Miller et al. (1993) foi determinada com modificações propostas por Rufino et al. (2007). O método é baseado na habilidade dos antioxidantes em capturar o cátion ABTS⁺. Esta captura provoca um decréscimo na absorvância, que é lida a partir da mistura do radical com o antioxidante em diferentes tempos, sendo representadas graficamente.

Dessa forma, o método baseia-se na geração do ABTS⁺, que apresenta cor azul esverdeado, por meio da reação do ABTS com persulfato de potássio que possui absorção máxima em 645, 734 e 815 nm. Com a adição de um antioxidante, ocorre a redução do ABTS⁺ a ABTS, promovendo a perda da coloração do meio reacional. Com a perda de cor, a porcentagem de inibição do ABTS⁺ é determinada em função do Trolox, um padrão submetido às mesmas condições de análise do antioxidante. O método é aplicável ao estudo de antioxidantes hidrossolúveis e lipossolúveis, compostos puros e extratos vegetais.

A partir do extrato obtido no item 4.2.4.1, preparou-se em tubos de ensaio, três diluições diferentes, em triplicata. Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 30 μ L de cada diluição do extrato para tubos de ensaio com 3,0 mL do radical ABTS⁺ e homogeneizou-se em agitador de tubos. Realizou-se a leitura (734 nm) após 6 minutos da mistura e utilizou-se o álcool etílico, como branco, para calibrar o

espectrofotômetro. Como solução padrão, usou-se o antioxidante sintético Trolox nas concentrações de 100 a 1500 μM em etanol.

A partir das absorvâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, plotou-se a absorvância no eixo Y e a diluição (mg/L) no eixo X. Em seguida, determinou-se a equação da reta. Para calcular a AAT, substituiu-se na equação da reta a absorvância equivalente a 1.000 μM do padrão trolox (Equação 3).

$$y = ax + b \quad (3)$$

Onde: x: 1.000 μM do trolox; y: Absorvância correspondente a 1.000 μM de trolox.

O valor obtido para o termo x corresponde à diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1.000 μM de trolox (Equação 4).

$$y = ax + b \quad (4)$$

Onde: y: Absorvância correspondente a 1.000 μM de trolox; x: Diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1.000 μM de trolox.

Todas as leituras foram realizadas em triplicata, e os resultados foram expressos em TEAC, ou seja, atividade antioxidante equivalente ao Trolox ($\text{mM}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso da matéria fresca).

4.2.5 Caracterização da atividade enzimática

Foram determinadas as atividades enzimáticas da polifenoloxidase e da peroxidase.

4.2.5.1 Preparação do extrato de peroxidase e polifenoloxidase

Para a obtenção do extrato, foram pesadas 5 g da polpa do fruto e homogeneizadas com 10 mL de tampão de fosfato de sódio 0,2 M (pH=6) utilizando um agitador Vortex, por 2 minutos. As misturas obtidas foram filtradas em tecido de algodão e o filtrado foi centrifugado em 15000 rpm por 10 minutos.

Determinação da atividade da peroxidase

A atividade da peroxidase foi determinada segundo descrito por Khan e Robinson (1994) e Holschuch (2000). A mistura de reação foi preparada em cubetas

descartáveis e composta da seguinte maneira: 1,5 mL de solução de guaiacol 1% em tampão fosfato de sódio 0,05 M (pH=6), 0,5 mL de tampão de fosfato de sódio 0,05 M (pH=6), sendo mantida em repouso por 10 minutos, 0,5 mL de peróxido de hidrogênio (0,165 μ L de H₂O₂ 30% em 50 mL de tampão fosfato de sódio 0,05 M) e 1 mL de extrato enzimático. Em seguida, com o auxílio de parafilme, as cubetas foram agitadas e fez-se a leitura imediata em espectrofotômetro a 470 nm, acompanhando por 10 minutos.

Para o preparo do branco foram adicionados em cubetas descartáveis 1,5 mL de solução de guaiacol 1% em tampão fosfato de sódio 0,05 M (pH=6) e 1 mL de extrato enzimático. Realizando leitura em espectrofotômetro a 470 nm.

A atividade da peroxidase foi expressa em unidade (atividade capaz de alterar 0,001 de absorvância a 470 nm) por mL (U.mL⁻¹) com leituras em triplicata. A atividade enzimática foi calculada pela Equação 5:

$$\text{Atividade (U.mL}^{-1}\text{)} = \frac{(\text{Abs}_{\text{Famostra}} - \text{Abs}_{\text{Iamostra}}) - (\text{Abs}_{\text{Fbranco}} - \text{Abs}_{\text{Ibranco}})}{0,001.t} \quad (5)$$

Onde: Abs_{Famostra} = Absorvância final da amostra; Abs_{Iamostra} = Absorvância inicial da amostra; Abs_{Fbranco} = Absorvância final do branco; Abs_{Ibranco} = Absorvância inicial do branco; t= Tempo em minutos;

Determinação da atividade da polifenoloxidase

Para atividade da enzima polifenoloxidase, a mistura de reação foi composta da seguinte maneira: 1 mL de tampão de fosfato de sódio 0,05 M (pH=6), 1 mL do extrato enzimático, 1 mL de catecol 0,05 M, com leitura imediata em espectrofotômetro a 425 nm acompanhando por 10 minutos.

Para o preparo do branco foram adicionados em cubetas descartáveis 1500 μ L de tampão de fosfato de sódio 0,05 M e 1000 μ L de amostra, realizando leitura em espectrofotômetro a 425 nm.

A atividade da polifenoloxidase foi expressa em unidade (atividade capaz de alterar 0,001 de absorvância a 470 nm) por mL (U.mL⁻¹) com leituras em triplicata. Assim como a atividade da peroxidase, a determinação da atividade da polifenoloxidase foi também calculada pela mesma Equação 5.

4.2.6 Pasteurização

O processo de pasteurização foi realizado em um pasteurizador tubular (Figura 5), constituído de três seções: aquecimento, retenção e resfriamento. Esse sistema de pasteurização foi idealizado pelo Dr. Alfredo Vitali (Pesquisador Científico do ITAL - Instituto de Tecnologia de Alimentos) (VIZZOTTO; CABRAL; LOPES, 2011). O funcionamento baseia-se na passagem do suco tropical por uma bomba peristáltica com controle de vazão de alta precisão, que impulsiona o suco pelas três seções até o envase, através de mangueiras de borracha sintética e serpentinas de aço inoxidável, que se encontram dentro de banhos com temperatura controlada.

As temperaturas de processo foram monitoradas em diversos pontos do sistema de pasteurização, como pode ser visto na Figura 5. O suco tropical de jambolão processado foi envasado em sacos plásticos autoclaváveis, posteriormente selado e submetido a congelamento rápido até a realização das análises de fenólicos totais, antocianinas totais, atividade antioxidante (DPPH e ABTS) e atividade enzimática (peroxidase e polifenoloxidase).

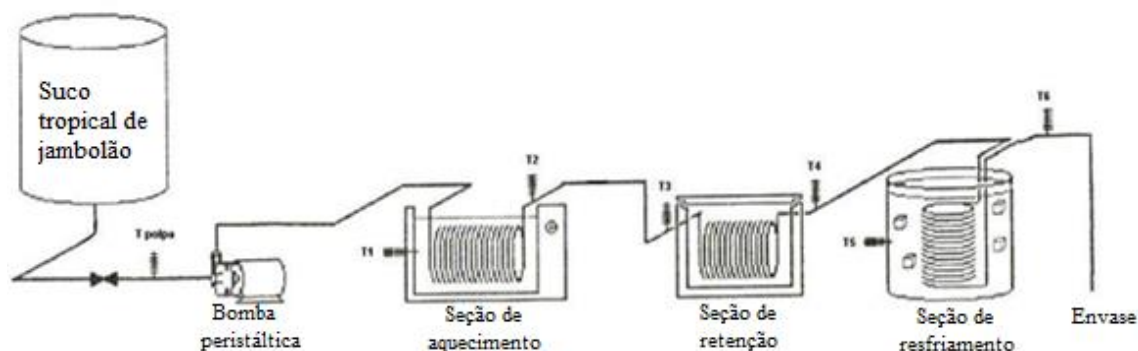


Figura 5. Sistema de pasteurização tubular.

4.2.7 Delineamento experimental

O processo de pasteurização do suco tropical de jambolão foi realizado segundo um planejamento composto central rotacional (2²) (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010), constituído por quatro ensaios lineares nos níveis -1 e +1, quatro ensaios axiais ($\pm\alpha=1,414$) e três ensaios no ponto central. Os níveis e os ensaios experimentais (matriz do planejamento) estão apresentados na Tabela 2. Como variáveis independentes foram adotados: temperatura (°C) e tempo (s), escolheu-se a faixa de temperatura de 70 a 90°C com base nos seguintes fatores: a prática indica que

em tratamentos a temperaturas superiores a 90°C as alterações sensoriais das polpas de frutos podem ser altamente significativas, em função do tempo de contato, e estudos efetuados com a POD indicam que 70°C é a temperatura mínima necessária para que ocorra sua desnaturação (BASTOS et al., 2008). Os tempos utilizados no tratamento térmico seguiram a faixa usada por Vizzotto, Cabral e Lopes (2011). Adotou-se como variáveis de respostas: fenólicos totais, antocianinas totais, atividade antioxidante (DPPH e ABTS) e atividade enzimática (peroxidase e polifenoxidase).

Tabela 2. Planejamento experimental completo (2^2) com as variáveis independentes e seus diferentes níveis.

Ensaio	Variáveis codificadas		Variáveis reais	
	N°	t ₁	t ₂	Temperatura (°C)
1	-1	-1	80	45
2	1	-1	90	45
3	-1	1	80	75
4	1	1	90	75
5	0	-1,414	85	39
6	0	1,414	85	81
7	-1,414	0	78	60
8	1,414	0	92	60
9	0	0	85	60
10	0	0	85	60
11	0	0	85	60

* t₁= Temperatura (°C); t₂= Tempo (s).

4.2.8 Tratamento estatístico

Foi usado o software Statistica versão 7.0 (STATSOFT, 2007) e os resultados foram avaliados através de:

- Correlação de Pearson
- Verificação dos efeitos significativos ($p \leq 0,05$);
- Coeficiente de regressão;
- Análise de variância (ANOVA);
- Metodologia de superfície de resposta;
- Função desejabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DO JAMBOLÃO

As características físicas dos frutos são de grande importância para a sua comercialização e manuseio. O tamanho e o peso são características físicas inerentes às espécies ou cultivares, mas são utilizadas como atributo de qualidade para seleção e classificação dos produtos de acordo com a conveniência do mercado consumidor. Da mesma forma, os diâmetros transversal e longitudinal são de grande utilidade para produtos destinados ao consumo e representam, em conjunto, o tamanho e a sua relação dá ideia da forma do produto (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Os resultados da caracterização física do jambolão estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Caracterização física dos frutos de jambolão (*Syzygium cumini*).

Determinações	Frutos de jambolão
Diâmetro transversal (cm)	2,49±0,20
Diâmetro longitudinal (cm)	1,68±0,26
Rendimento (%)	57,22

*Os valores representam a média de 100 repetições ± desvio padrão.

Os resultados apresentaram 2,49±0,20 cm de diâmetro transversal e 1,68±0,26 cm de diâmetro longitudinal, o que permitem afirmar que o fruto é pequeno. Souza (2007) encontrou valores de 2,44±0,17 cm de comprimento transversal e 1,69±0,15 cm de comprimento longitudinal para o mesmo fruto, valores esses iguais ao encontrado neste estudo.

Quando analisado o rendimento percentual da polpa, o fruto apresentou 57,22%, valor esse inferior ao relatado por Souza (2007), Benherlal e Arumughan (2007) e Lago, Gomes e Silva (2006), (75,28%, 66,6% e 67,69% respectivamente). Vale ressaltar, que de acordo com Lira Junior et al. (2005), o valor mínimo exigido de percentual de rendimento para os frutos destinados à elaboração de produtos, especialmente pelas indústrias processadoras, é de 40%. Dessa forma, o fruto demonstra um grande potencial para a indústria alimentícia, principalmente de polpa e sucos.

A variação nas características físicas dos frutos está relacionada a fatores como: condições climáticas, época do plantio, colheita entre outros, entretanto, a maior variação deve-se a constituição genética (FAGUNDES; YAMANASHI, 2001; SOUZA, 2007).

5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA POLPA DE JAMBOLÃO

A composição dos frutos também é muito relevante para a sua qualidade, dada à presença de vários constituintes químicos da polpa. É essa qualidade intrínseca que oferece aos frutos e aos produtos a qualidade organoléptica e nutricional, responsável pela sua aceitação definitiva no mercado (LIMA et al., 2002). Os resultados das análises físico-químicas da polpa dos frutos de jambolão encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4. Caracterização físico-química da polpa de jambolão (*Syzygium cumini*).

Determinações	Polpa de jambolão
Umidade (%)	89,43±0,04
Cinzas (%)	0,27±0,08
Lipídeos (%)	0,23±0,05
Proteína (%)	0,72±0,02
Acidez (ac. cítrico)	5,99±0,05
Sólidos solúveis (°Brix)	9,17±0,12
pH	3,34±0,01

*Os valores representam a média das triplicatas ± desvio padrão (base seca).

Como a grande maioria dos vegetais, o jambolão possui elevado teor de umidade, baixo teor de proteína e gordura (SANTOS et al., 2010). A umidade encontrada foi de 89,43±0,04 % e esse foi superior aos relatados por Barcia et al. (2012), Lago, Gomes e Silva (2006) e Rufino et al. (2010), os quais relataram teores na faixa de 81,7±3,6 a 87,75±0,52 %, para esse fruto. A umidade de um alimento está relacionada com sua estabilidade, qualidade e composição. De acordo com esses resultados deve-se ter especial atenção quanto ao seu manuseio, transporte e processamento, por facilitar a sua perecibilidade.

Em relação ao teor de proteína, foi encontrado valor de 0,72±0,02 %, sendo este superior ao obtido por Lago, Gomes e Silva (2006), que relataram teor de 0,67±0,01 %, e inferior quando comparado aos valores descritos por Barcia et al. (2012), que obtiveram teores de até 0,91 % para o fruto.

Já os teores de lipídeos (0,23±0,05 %) e cinzas (0,27±0,08 %) da polpa de jambolão foram inferiores aos resultados obtidos por Lago, Gomes e Silva (2006), isto é, 0,30±0,01 % e 0,34 ±0,01 %, respectivamente. Barcia et al. (2012) encontraram teores de cinza de 0,35±0,01 a 0,42±0,01%, superiores ao encontrado neste estudo.

Os sólidos solúveis representam os compostos solúveis em água presentes nas frutas, como açúcares, vitaminas, ácidos, aminoácidos e algumas pectinas. Geralmente o teor de sólidos solúveis aumenta durante a maturação pela biossíntese ou degradação de polissacarídeos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

O teor de sólidos solúveis encontrado na polpa de jambolão foi de $9,17 \pm 0,12$ °Brix, sendo este valor próximo ao relatado por Lago, Gomes e Silva (2006), isto é, $9,00 \pm 0,01$ °Brix, e ambos se encontram no intervalo de sólidos solúveis utilizado para determinar ponto ideal de colheita de frutos (8-10 °Brix) (CHIM, 2008). Em contrapartida, Souza (2007) encontrou teor superior ($15,20 \pm 0,72$ °Brix) ao deste estudo. Barcia (2009) apresentou também valores superiores ao deste estudo, oscilando de $13,8 \pm 0,00$ a $19,0 \pm 0,41$ °Brix. Esta variação elevada dos últimos autores citados pode ser consequência do clima na época de colheita, o qual pode ter influenciado na alta síntese de açúcares, decorrente da fotossíntese da planta (BARCIA, 2009).

O pH é estabelecido como atributo de qualidade de polpas de frutas pela legislação vigente (BRASIL, 2000). É constituído como fator intrínseco dos frutos e auxilia na conservação de suas polpas por ocasionar retenção do crescimento microbiano.

Na Tabela 4 o valor de pH ($3,34 \pm 0,01$) e da acidez total titulável ($5,99 \pm 0,05$) vem confirmar que a polpa é característica de frutas cítricas. O valor de pH encontrado está dentro da faixa apresentada por Barcia (2009), que em seu estudo com jambolão de diferentes regiões, encontrou valores de $2,95 \pm 0,01$ a $3,35 \pm 0,01$. Quanto à acidez, em comparação com o mesmo autor acima citado, obteve teores de acidez de $0,035 \pm 0,05$ a $0,079 \pm 0,02$, esses valores são inferiores ao encontrado neste estudo. Lago, Gomes e Silva (2006) encontraram teor de acidez de $5,91 \pm 0,01$, sendo este próximo ao obtido no presente estudo.

Os valores de pH, acidez e sólidos solúveis totais apresentam diferenças entre as frutas oriundas de diferentes plantas e entre as mesmas plantas em épocas diferentes. Estas variações podem estar associadas às condições edafoclimáticas (clima, relevo, temperatura, umidade do ar, composição atmosférica, radiação e precipitação pluvial), as quais influenciam diretamente na composição química da fruta (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

5.3 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DA POLPA DE JAMBOLÃO

Os compostos fenólicos presentes nas frutas e hortaliças são um dos principais responsáveis pela atividade antioxidante destas. Os teores de fenólicos totais e antocianinas totais da polpa de jambolão estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Teor de fenólicos totais e antocianinas totais da polpa de jambolão.

Determinações	Polpa de jambolão
Fenólicos totais (mgEAG.100g ⁻¹)	182,01±4,77
Antocianinas totais (mg.100g ⁻¹)	93,56±2,65

*Os valores representam a média das triplicatas ± desvio padrão (base úmida). AGE: Ácido gálico equivalente.

O teor de fenólicos totais (Tabela 5) da polpa de jambolão foi de 182,01±4,77 mgEAG.100g⁻¹ e esse resultado se encontra de acordo com o apresentado por Rufino et al. (2010) (185±3,8 mg.EAG.100g⁻¹). Faria, Marques e Mercadante (2011) obtiveram valor de 148,3 ± 32,4 mgEAG.100g⁻¹, sendo esse inferior ao desse estudo. Benherlal e Arumughan (2007) determinaram valor superior (390±0,5mgEAG.100g⁻¹) aos teores citados pelos autores acima.

O conteúdo final de compostos fenólicos pode ser influenciado por fatores como a maturação, a espécie, práticas de cultivo, origem geográfica, estágio de maturação, condições de colheita e processo de armazenamento (KIM; JEONG; LEE, 2003; SEVERO et al, 2009; TOMÁS-BARBERAN; ESPÍN, 2001).

As proporções e tipos de solventes usados para a quantificação de fenólicos totais foram distintos entre os autores acima mencionados, e tal ocorrência pode gerar níveis de extração mais ou menos eficientes, o que concorre para a quantificação final do composto avaliado (TOMÁS-BARBERAN; ESPÍN, 2001; NACZK; SHAHIDI, 2004).

Rufino et al. (2010), ao analisarem o teor fenólicos totais de dezoito frutas tropicais brasileiras não tradicionais, encontraram 1176,3±14,8 mgEAG.100g⁻¹ para camu-camu, 454±44,6 mgEAG.100g⁻¹ para açaí, 118±3,7 mgEAG.100g⁻¹ para caju e 169±21,5 mgEAG.100g⁻¹ para mangaba, sendo que este último apresentou um conteúdo de fenólicos próximo ao quantificado neste estudo.

Seguindo o exemplo de Vasco, Ruales e Kamal-Eldin (2008), ao analisarem o teor de fenólicos totais de dezessete frutos provenientes do equador, classificaram-os

em três categorias: baixo ($< 100 \text{ mgEAG.100g}^{-1}$), médio (100 a $500 \text{ mgEAG.100g}^{-1}$) e alto ($>500 \text{ mgEAG.100g}^{-1}$) para amostras frescas. Dessa forma, o extrato de jambolão obtido nesse estudo é considerado uma fonte média de compostos fenólicos.

Quando analisado o conteúdo de antocianinas totais, o fruto apresentou $93,56 \pm 2,65 \text{ mg.100g}^{-1}$, teor próximo ao relatado por Rufino et al. (2010) ($93,3 \pm 2,65 \text{ mg.100g}^{-1}$) para o jambolão. Barcia et al. (2012) encontraram menores teores, isto é, $7,4 \pm 4,6 \text{ mg.100g}^{-1}$ a $16,9 \pm 15,5 \text{ mg.100g}^{-1}$ em polpa de jambolão de três regiões. Resultados superiores foram obtidos por Faria, Marques e Mercadante (2011) ($210 \pm 9,1 \text{ mg.100g}^{-1}$), Sousa (2012) ($223,18 \pm 7,70 \text{ mg.100g}^{-1}$) e Kuskoski et al. (2006) (108 a 111 mg.100g^{-1}), sendo que estes três últimos autores usaram o método da diferença de pH para a quantificação, o que também pode ter acarretado variações nos teores antociânicos para este fruto.

Cabe ressaltar, que a grande variação observada nos teores dos pigmentos pode ser decorrente, além das diferentes metodologias empregadas para extração e quantificação, condições ambientais, grau de maturação, genética, armazenamento, entre outros fatores podem acarretar essa diversidade nos resultados (BARCIA et al., 2012).

Em comparação com as polpas dos frutos pequenos como o mirtilo (93 a 280 mg.100g^{-1}), classificado como o mais rico em antocianinas (CONNOR et al., 2002), puçá-preto ($103 \pm 21,6 \text{ mg.100g}^{-1}$) e açaí ($111 \pm 30,4 \text{ mg.100g}^{-1}$) (RUFINO et al., 2010), a polpa de jambolão apresentou teor inferior de antocianinas. Entretanto, quando comparado a outras polpas de frutos como a amora-preta ($90,5 \pm 0,1 \text{ mg.100g}^{-1}$) (FERREIRA; ROSSO; MERCANTE, 2010), acerola ($18,9 \pm 0,9 \text{ mg.100g}^{-1}$), camu-camu ($42,2 \pm 17,0 \text{ mg.100g}^{-1}$) e jaboticaba ($58,1 \pm 0,9 \text{ mg.100g}^{-1}$) (RUFINO et al., 2010), o jambolão apresentou teor superior a esses frutos.

O jambolão é uma boa fonte de antocianinas. Isso faz com que esse fruto seja recomendado para consumo *in natura* ou sua utilização na indústria de alimentos, pois esses pigmentos, além de suas cores características, também apresentam excelentes propriedades antioxidantes, participando na inibição da peroxidação lipídica, na desagregação de plaquetas e na ação antitumoral e antimutagênica (ANGELO; JORGE, 2007; SÁ, 2008).

5.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA POLPA DE JAMBOLÃO

Atualmente, não existe um método oficial para determinar a atividade antioxidante em alimentos de origem vegetal e seus subprodutos, tendo em vista os vários mecanismos antioxidantes que podem ocorrer, bem como a diversidade de compostos bioativos. Entre os ensaios espectrofotométricos mais utilizados, se destacam os que utilizam os radicais livres sintéticos DPPH• e ABTS•+, pela facilidade de execução e pela boa correlação com as demais metodologias para avaliar a atividade antioxidante (SOUSA; VIEIRA; LIMA, 2011). Os resultados da atividade antioxidante dos extratos orgânicos da polpa de jambolão, determinada pelo método de sequestro do radical DPPH• e ABTS•+, encontram-se dispostos na Tabela 6.

Tabela 6. Atividade antioxidante pelo método do DPPH e ABTS dos extratos orgânicos da polpa de jambolão.

Método	Polpa de jambolão
EC ₅₀ (g de polpa/g de DPPH)	4.552,26±88,70
ABTS (µM de Trolox equivalente/g)	18,48±0,25

*Os valores representam a média das triplicatas ± desvio padrão (base úmida).

Os resultados do método de DPPH foram expressos por meio do cálculo da quantidade de antioxidante necessária para consumir metade do radical DPPH contido na solução, parâmetro denominado EC₅₀. Vale ressaltar, que o potencial antioxidante do extrato é inversamente proporcional ao valor do EC₅₀, ou seja, quanto maior o valor de EC₅₀ apresentado pelo extrato, maior quantidade de amostra no extrato é necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do DPPH e, conseqüentemente, menor sua atividade antioxidante.

Os resultados do EC₅₀ do extrato orgânico da polpa de jambolão (Tabela 6) demonstraram que o extrato consumiu bastante radical livre DPPH• (EC₅₀=4.552,26±88,70 g/gDPPH). Rufino et al. (2010) ao investigar os compostos fitoquímicos bioativos presentes em jambolão, obtiveram valor inferior de EC₅₀ para o extrato da polpa desse fruto de 3.025±65,4 g/gDPPH, conseqüentemente maior atividade antioxidante ao deste estudo.

Isso corrobora quando se analisa a atividade antioxidante obtida na polpa de jambolão pelo método do ABTS, que apresentou 18,48±0,25 µMTrolox/g, valor inferior

ao relatado por Rufino et al. (2010), que obtiveram $29,7 \pm 0,3 \mu\text{MTrolox/g}$ para a polpa desse fruto.

Vale ressaltar que a atividade de sequestro dos radicais livres é diferenciada entre frutos e entre extratos do mesmo fruto devido à diversidade dos compostos bioativos extraídos (SOUSA, 2012).

Em comparação com outras polpas de frutos da família Myrtaceae, estudadas por Rufino et al. (2010), a atividade antioxidante obtida pelo método de DPPH foram superiores, como no camu-camu ($EC_{50} = 478 \pm 1,2 \text{ g/gDPPH}$), na jaboticaba ($EC_{50} = 1.472 \pm 16,9 \text{ g/gDPPH}$) e na uvaia ($EC_{50} = 3.247 \pm 392 \text{ g/gDPPH}$). O mesmo comportamento superior foi observado pelo método do ABTS para camu-camu ($153 \pm 2,6 \mu\text{MTrolox/g}$) e jaboticaba ($37,5 \pm 1,4 \mu\text{MTrolox/g}$), exceto para a polpa de uvaia ($18 \pm 0,8 \mu\text{MTrolox/g}$) que apresentou atividade antioxidante inferior ao deste estudo.

A polpa de jambolão apresentou baixo potencial antioxidante, mas seu consumo deve ser recomendado, tanto para o consumo *in natura* como para aplicação nos setores farmacêuticos, cosméticos e nutricionais devido aos benefícios que podem proporcionar à saúde dos consumidores, sequestrando radicais livres, contribuindo para a redução da incidência de doenças crônicas e degenerativas (BENHERLAL; ARUMUGHAN, 2007).

5.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL DA PASTEURIZAÇÃO

Os resultados do delineamento experimental do suco tropical de jambolão pasteurizado e não pasteurizado (padrão), utilizando como variáveis independentes temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e tempo(s), apresentaram teores de fenólicos e antocianinas totais, atividade antioxidante (DPPH e ABTS) e atividade enzimática (peroxidase e polifenoloxidase) descritos na Tabela 7.

Tabela 7. As médias e desvio-padrão das análises de fenólicos totais, antocianinas totais, atividade antioxidante (DPPH e ABTS) e atividade enzimática (peroxidase e polifenoloxidase) do suco tropical de jambolão sem (Padrão) e com pasteurização.

t₁ (°C)	t₂ (s)	FT (mgEAG.100g ⁻¹)	AT (mg.100g ⁻¹)	ABTS (μMTrolox.g ⁻¹)	DPPH (EC ₅₀)	POD (U.mL ⁻¹)	PFO (U.mL ⁻¹)
Padrão		138,69±0,03	69,10±3,74	12,80±2,74	7070,98±9,61	0,60±0,06	0,20±0,01
80	45	90,16±0,44	55,81±0,16	7,61±0,14	7639,21±139,40	0,00	0,00
90	45	98,44±0,72	57,95±0,37	10,34±0,37	7433,32±149,63	0,00	0,00
80	75	95,90±3,74	59,49±0,88	10,68±0,88	8487,59±33,27	0,00	0,00
90	75	98,91±2,43	60,41±1,72	11,65±1,72	6247,18±6,58	0,00	0,00
85	39	95,55±2,30	57,22±0,38	8,69±0,38	6563,58±44,75	0,10	0,00
85	81	96,24±0,52	58,80±1,05	12,04±1,05	5677,04±12,20	0,00	0,00
78	60	93,92±0,87	59,09±1,21	4,72±1,21	7174,15±33,84	0,00	0,00
92	60	100,53±2,25	67,14±0,25	9,66±0,25	6137,39±84,23	0,00	0,00
85	60	93,13±3,47	59,63±1,91	7,80±1,91	5414,71±66,54	0,00	0,00
85	60	91,97±2,74	58,38±1,32	7,57±1,32	5218,04±171,46	0,00	0,00
85	60	93,02±0,91	59,70±1,76	8,32±1,76	5452,10±143,92	0,00	0,00

* Os valores representam a média das triplicatas ± desvio padrão (base úmida). t₁: Temperatura; t₂: Tempo; FT: Fenólicos totais; AT: Antocianinas totais; POD: Peroxidase. PFO: polifenoloxidase.

De forma geral, os valores de fenólicos totais, antocianinas totais e atividade antioxidante, pelo método ABTS, sofreram reduções em função das condições do tratamento térmico quando comparados aos valores do suco tropical não pasteurizado, o que já era esperado, uma vez que o tratamento térmico afeta esses constituintes (PATRAS et al., 2010; DUTRA et al., 2012). Observa-se ainda, que os tratamentos alcançaram a completa inativação da peroxidase e polifenoloxidase, exceto para o tratamento submetido à temperatura de 85°C por 39s, que apresentou atividade da peroxidase de 0,10 U.mL⁻¹. Isto pode ser explicado pelo menor tempo de exposição usado neste ensaio, que possivelmente não acarretou a completa inativação da peroxidase, uma vez que a mesma é mais resistente do que a polifenoloxidase.

Foi realizada uma análise de correlação (Tabela 8) entre os compostos bioativos (fenólicos e antocianinas totais) e a atividade antioxidante (DPPH e ABTS) do suco tropical de jambolão pasteurizado.

Tabela 8. Análise de correlação realizada entre os compostos bioativos (fenólicos e antocianinas totais) e a atividade antioxidante total (métodos DPPH e ABTS) do suco tropical de jambolão pasteurizado.

Determinações	Coefficiente de correlação de Pearson (<i>r</i>)
FT x ABTS	0,63*
FT x DPPH	0,08ns
AT x ABTS	0,30ns
AT x DPPH	-0,27ns

* = *r* significativo ao nível de 5%; ns = *r* não significativo ao nível de 5%. PT: Fenólicos totais; AT: Antocianinas totais.

De acordo com Tabela 8, houve correlação moderada positiva e significativa ao nível de 95% de confiança entre a atividade antioxidante total, pelo método de ABTS, com o conteúdo de fenólicos totais. O que não foi observado pelo método de DPPH, nem com o teor de antocianinas. O valor de *r* indica uma correlação moderada e positiva (0,63) do conteúdo de fenólicos totais com a atividade antioxidante pelo método de ABTS no suco tropical de jambolão pasteurizado.

Rufino et al. (2010), ao analisarem a correlação entre os compostos bioativos e atividade antioxidante de dezoito frutas tropicais não tradicionais pelo método ABTS, também obtiveram correlação positiva e significativa para o conteúdo de fenólicos totais (0,92), não sendo observado o mesmo para o teor de antocianinas. Entretanto, para o método DPPH, houve correlação negativa significativa para o conteúdo de antocianinas (-0,21) e para o conteúdo de fenólicos totais (-0,72), sendo que a correlação é negativa pelo fato do valor de EC₅₀ ser inversamente proporcional à atividade antioxidante.

Kuskoski et al. (2005) estudaram onze polpas de frutas e encontraram correlação entre a atividade antioxidante, tanto pelo método de DPPH quanto pelo ABTS, com os compostos fenólicos e as antocianinas. Sugerindo assim, que a atividade antioxidante das frutas tem influência tanto dos compostos fenólicos, quanto das antocianinas totais.

5.5.1 Efeitos da pasteurização sobre os fenólicos totais

A Tabela 9 apresenta os valores correspondentes aos efeitos estimados para os fenólicos totais do suco tropical de jambolão pasteurizado, assim como a probabilidade de significância ($p \leq 0,05$).

Tabela 9. Efeito estimado, erro puro e significância estatística de fenólicos totais do suco tropical de jambolão pasteurizado.

Fatores	Efeito	Erro puro	(p)
Constante	92,7171	0,3696	0,0000
Temperatura (L)	5,1879	0,4551	0,0076
Temperatura (Q)	4,1990	0,5463	0,0165
Tempo (L)	1,8121	0,4551	0,0577
Tempo (Q)	2,8418	0,5463	0,0350
Temperatura x Tempo	-2,6350	0,6403	0,0543

*As constantes em negrito são estatisticamente significativas ao nível de 95% de confiança.

De acordo com análise dos efeitos das variáveis utilizadas para o teor de fenólicos totais do suco tropical de jambolão pasteurizado, descritos na Tabela 9, somente a temperatura (L), temperatura (Q) e o tempo (Q) apresentaram significância estatística sobre os fenólicos totais ao nível de 95% de confiança.

O efeito estimado indica o quanto cada fator influi na resposta estudada, pois quanto maior o seu valor, maior é a sua influência. De acordo com a Tabela 9, a temperatura (L) foi efeito de maior influência na extração de fenólicos totais do suco tropical de jambolão pasteurizado.

Para as constantes lineares, um efeito positivo indica que o aumento da variável provoca um aumento na resposta. Dessa forma, o parâmetro temperatura (L), apresentou efeito positivo sobre o teor de fenólicos totais, o que indica que o aumento desse fator contribui para aumento do teor de fenólicos totais do suco tropical de jambolão pasteurizado. Machado, Pereira e Marcon (2013), ao estudarem o efeito da pasteurização e armazenamento em compostos fenólicos presentes em frutas e hortaliças, verificaram que houve um acréscimo de extração dos compostos fenólicos com o aumento da temperatura na maior parte dos vegetais estudados, como por exemplo, na ameixa preta.

Para Dutra et al. (2012), essas maiores retenções podem ser resultados de uma provável redução do teor de água presente no suco em razão da evaporação ocorrida dentro do trocador de calor, culminando na concentração desses compostos. Os mesmos autores observaram um aumento nos teores de compostos fenólicos totais, quando estudado o efeito do tratamento térmico na concentração de compostos bioativos do suco de tangerina submetendo-o a 88 °C/30 s, 94°C/16 s, 94°C/44s, 98°C/20s e 100°C/30s.

Além disso, o aumento da temperatura pode auxiliar na manutenção dos pigmentos, por auxiliar na inativação de enzimas que degradam os compostos fenólicos, preservando-os (FALCÃO et al., 2007).

Pode-se afirmar ainda, que para valores de p inferiores a 5%, a variável é considerada estatisticamente significativa. O que não foi observado para a variável Tempo (L) e para a interação Temperatura x Tempo.

O modelo regressão dos dados experimentais testados para o teor de fenólicos totais esta apresentado pela Equação 7:

$$FT = 91,1267 + 3,2299t_1 + 1,8485t_1^2 - 0,1459t_2 + 0,4914t_2^2 - 5,3902t_1t_2 \quad (7)$$

Onde: FT: Fenólicos totais; t_1 : Temperatura; t_2 : Tempo.

De acordo com ANOVA (Tabela 10) o valor de $F_{\text{calculado}}$ da regressão (16,30) foi 3,2277 vezes superior ao F_{Tabelado} (5,05), indicando uma regressão significativa ($p \leq 0,05$). Pois segundo Box et al. (1978) para que uma regressão seja não apenas significativa, mas também útil para fins preditivos, a relação de $F_{\text{calculado}}/F_{\text{Tabelado}}$ deve ser superior a três.

Tabela 10. Análise de variância (ANOVA) do modelo de regressão gerado para fenólicos totais do suco tropical de jambolão pasteurizado.

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	$F_{\text{calculado}}$	$F_{\text{Tabelado}} (p \leq 0,05)$	R^2
Regressão	95,0152	5	19,0030	16,2971	5,0503	0,9422
Resíduos	5,8302	5	1,1660			
Falta de Ajuste	5,0101	3	1,6700	4,0728	19,1643	
Erro Puro	0,8201	2	0,4101			
Total	100,8454	10				

*SQ: soma quadrática; GL: graus de liberdade; MQ: média quadrática.

A Análise de variância (ANOVA) específica para o modelo de regressão obtido para o teor de fenólicos totais (Tabela 10) apresentou coeficiente de determinação (R^2) de 0,9422 significativo ($p \leq 0,05$), indicando que os dados se ajustaram ao modelo, e este explicou a variação de 94,22% encontrada para modelo testado. Segundo Barros Neto, Scarminio, Bruns (2010), quanto mais próximo de 1 o valor de R^2 menor o erro e melhor o ajuste do modelo. Assim, o coeficiente de determinação encontrado para o modelo nesta pesquisa para fenólicos totais do suco

tropical de jambolão pasteurizado pode ser utilizado para fins preditos. A falta de ajuste não foi significativa ($F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$) e confirma que os dados experimentais se ajustaram ao modelo.

A superfície de resposta para fenólicos totais do suco tropical de jambolão pasteurizado está disposta na Figura 6.

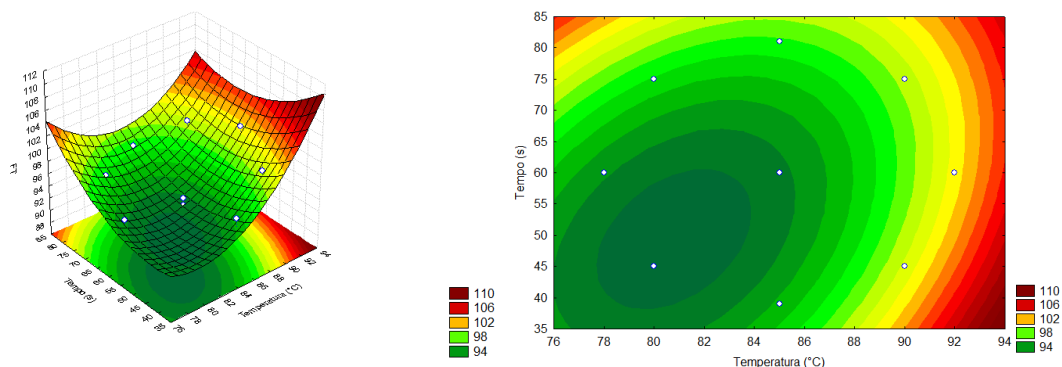


Figura 6. (a) Superfície de resposta quadrática e (b) curvas de nível para avaliação do teor de fenólicos totais em função do tempo e da temperatura de pasteurização no suco tropical de jambolão.

A superfície de resposta corrobora a análise de efeitos com uma região de máximo, e permitem visualizar a variação da resposta para cada parâmetro estudado (tempo e temperatura). Observa-se que a região (máximo), onde são obtidas as menores perdas de fenólicos totais, correspondem à faixa de temperaturas mais elevadas, entre 90 a 92 °C de pasteurização. Considerando-se somente esta resposta, podem ser realizados processamentos de pasteurização em suco tropical de jambolão com temperatura elevada, de até 92 °C, com tempos curtos, de 35 a 45 s, para maior retenção dos fenólicos totais.

5.5.2 Efeitos da pasteurização sobre as antocianinas totais

Os resultados da análise estatística aplicada aos dados experimentais do teor de antocianinas totais estão mostrados na Tabela 11.

Tabela 11. Efeito estimado, erro puro e significância estatística das antocianinas totais do suco tropical de jambolão pasteurizado.

Fatores	Efeito	Erro puro	(p)
Média	59,2679	0,4288	0,0001
Temperatura (L)	3,6187	0,5278	0,0206
Temperatura (Q)	2,7308	0,6336	0,0498
Tempo (L)	1,8758	0,5278	0,0709
Tempo (Q)	-2,1416	0,6336	0,0775
Temperatura x Tempo	-0,6100	0,7427	0,4978

*As constantes em negrito são estatisticamente significativas ao nível de 95% de confiança.

Os efeitos significativos ao nível de 95% de confiança para o teor de antocianinas totais foram: Temperatura (L) e Temperatura (Q). O efeito da temperatura (L) foi positivo, indicando que quanto maior a temperatura, maior a retenção nos teores de antocianinas nos tratamentos estudados. Além disso, foi o efeito de maior influência na manutenção destes pigmentos no suco tropical de jambolão pasteurizado. Machado, Pereira e Marcon (2013), ao avaliarem o comportamento das antocianinas frente à elevação da temperatura em polpas de frutas, como na ameixa preta (diluição 1:1), obtiveram comportamento similar ao deste estudo.

Segundo Wang e Xu (2007), o aumento da temperatura e do tempo pode causar destruição seguindo modelo de primeira ordem para as antocianinas. Em seus estudos, observaram que as antocianinas presentes em amora, durante o aquecimento e armazenamento, degradam mais rapidamente com o aumento da temperatura. Sendo assim, a maior estabilidade de antocianinas foi alcançada utilizando menores temperaturas com intervalos de tempos curtos durante o processamento e armazenamento.

Goffey et al. (1981), todavia, afirmaram que isso nem sempre acontece, pois para algumas antocianinas o aumento na temperatura pode favorecer a produção de complexos ou reações de polimerização durante a degradação, que estabilizam os pigmentos. Processos utilizando baixo tempo em alta temperatura têm sido recomendados para melhor retenção dos pigmentos (KECHINSKI et al., 2010). No caso de sucos de frutas vermelhas, perdas de antocianinas mostraram-se insignificantes para tratamentos térmicos com duração inferior a 12 minutos a 100°C (MARKAKIS, 1982).

A Equação 8 representa o modelo de regressão dos dados experimentais testados para o teor de antocianinas totais do suco tropical de jambolão pasteurizado:

$$AT = 59,2679 + 1,8093t_1 + 1,3654t_1^2 + 0,9379t_2 - 1,0708t_2^2 - 0,3050t_1t_2 \quad (8)$$

Onde: AT: Antocianinas totais; t_1 : Temperatura; t_2 : Tempo.

A partir das variáveis significativas, efetuou-se a análise de variância (ANOVA) apresentada na Tabela 12.

Tabela 12. Análise de variância (ANOVA) do modelo de regressão gerado para teor de antocianinas totais do suco tropical de jambolão pasteurizado.

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	F _{calculado}	F _{tabelado} (p≤0,05)	R ²
Regressão	61,2669	5	12,2534	2,911	5,0503	74,43
Resíduos	21,0469	5	4,2094			
Falta de Ajuste	19,9436	3	6,6479	12,0512	19,1643	
Erro Puro	1,1033	2	0,5516			
Total	82,3138	10				

*SQ: soma quadrática; GL: graus de liberdade; MQ: média quadrática.

Na Tabela 12, o coeficiente de determinação (R^2) foi de 0,7443, indicando assim, que apenas 74% da variação na resposta podem ser explicadas pelo modelo. Esse coeficiente de determinação não é um valor ideal para predição dos dados, mas ainda pode ser considerado como modelo de tendência (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

O valor $F_{\text{calculado}}$ da falta de ajuste (12,05) foi menor que o F_{tabelado} (19,16), revelando que os dados experimentais se ajustaram ao modelo obtido. Entretanto, o valor $F_{\text{calculado}}$ da regressão (2,91) foi inferior ao F_{tabelado} (5,05), evidenciando uma regressão não significativa. Pois segundo Box et al. (1978) para que uma regressão seja não apenas significativa, mas também útil para fins preditivos, a relação de $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$ deve ser superior a três. No caso deste estudo, a relação para a regressão apresentou um valor de 0,5764, ficando bem abaixo da relação esperada. O modelo de regressão gerado foi considerado não significativo estatisticamente ao nível de 95% de confiança, expressando uma equação não válida para fins preditos segundo preconizado por Barros Neto, Scarminio e Bruns (2010).

Apesar dos resultados obtidos não proporcionarem a geração de um modelo matemático predito, um gráfico de contorno foi gerado e indica a tendência do processo para o teor de antocianinas totais (Figura 7).

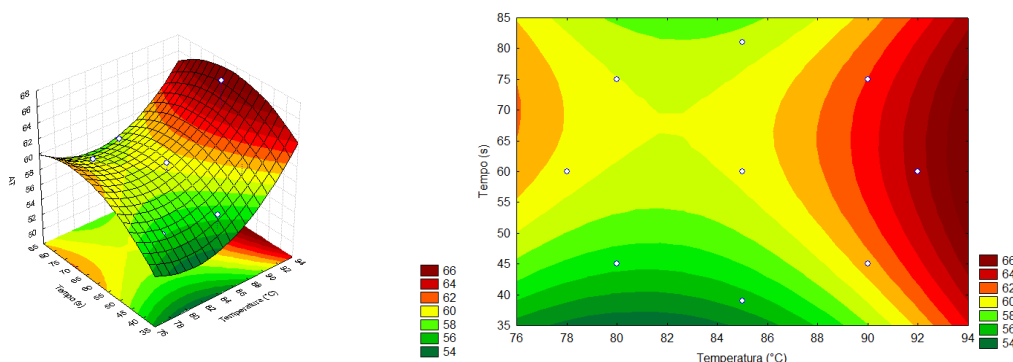


Figura 7. (a) Superfície de resposta quadrática e (b) curvas de nível para avaliação do teor de antocianinas totais em função do tempo e da temperatura de pasteurização no suco tropical de jambolão.

Observa-se que quando são aplicadas temperaturas mais elevadas (zona em vermelho), mantendo-se a pasteurização em tempos de 45 a 75 segundos, tem-se uma maior retenção de antocianinas totais. A Figura 7 igualmente indica que a variável temperatura exerceu maior influência na retenção das antocianinas totais.

5.5.3 Efeitos da pasteurização sobre a atividade antioxidante pelo método de ABTS

A Tabela 13 apresenta os valores correspondentes aos efeitos estimados para atividade antioxidante, segundo o método de ABTS, do suco tropical de jambolão pasteurizado, assim como a probabilidade de significância ($p \leq 0,05$).

Tabela 13. Efeito estimado, erro puro e significância estatística atividade antioxidante pelo método de ABTS do suco tropical de jambolão pasteurizado.

Fatores	Efeito	Erro puro	(p)
Média	7,8797	0,2218	0,0008
Temperatura (L)	2,6808	0,2731	0,0102
Temperatura (Q)	-0,0538	0,3278	0,8847
Tempo (L)	2,2904	0,2731	0,0139
Tempo (Q)	3,1860	0,3278	0,0104
Temperatura x Tempo	-0,8800	0,3842	0,1491

* As constantes em negrito são estatisticamente significativas ao nível de 95% de confiança.

De acordo com a Tabela 13, os efeitos Temperatura (L), Tempo (L) e Tempo (Q) foram significativos ao nível de 5% de significância. Percebem-se ainda valores positivos para as constantes lineares (L), demonstrando que o aumento do tempo e temperatura contribui diretamente para maior retenção da atividade antioxidante pelo

método de ABTS do suco tropical de jambolão pasteurizado. No que se refere ao efeito do Tempo (Q), o mesmo foi positivo, indicando a existência de uma região de mínimo.

O modelo estatístico proposto para representar a atividade antioxidante pelo método de ABTS do suco tropical de jambolão pasteurizado esta descrita pela Equação 9.

$$\text{AAT(ABTS)} = 6,9253 + 1,5059t_1 - 1,4641t_1^2 + 1,1155t_2 + 1,7756t_2^2 - 2,5332t_1t_2 \quad (9)$$

Onde: AAT: Atividade antioxidante total t_1 : Temperatura; t_2 : Tempo.

A partir dos efeitos significativos obtidos, efetuou-se a análise de variância (ANOVA) para verificação do modelo obtido para fenólicos totais, disposta na Tabela 14.

Tabela 14. Análise de variância (ANOVA) do modelo de regressão gerado para atividade antioxidante pelo método de ABTS do suco tropical de jambolão pasteurizado.

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	F _{calculado}	F _{tabelado} (p≤0,05)	R ²
Regressão	40,7185	5	8,1437	8,3226	5,0503	0,8927
Resíduos	4,8925	5	0,9785			
Falta de Ajuste	4,5973	3	1,5324	10,3798	19,1643	
Erro Puro	0,2953	2	0,1476			
Total	45,611	10				

*SQ: soma quadrática; GL: graus de liberdade; MQ: média quadrática.

Na Tabela 14, o valor F_{calculado} da falta de ajuste (10,38) foi menor que o F_{tabelado} (19,16), revelando que os dados experimentais se ajustaram ao modelo. O coeficiente de determinação (R²) foi de 0,8927, indicando que o modelo explicou 89,27 % da variação dos dados experimentais, bem como indica um bom ajuste dos dados avaliados ao modelo. O valor F_{calculado} da regressão (8,32) foi superior ao F_{tabelado} (5,05), evidenciando uma regressão significativa. No entanto, o modelo não pode ser considerado preditivo segundo Box et al. (1978), pois o F_{calculado} da regressão foi somente 1,6 vezes maior que o F_{tabelado}, ficando bem abaixo da relação esperada, isto é, superior a 3.

Apesar dos resultados obtidos, a superfície de resposta (Figura 8) foi gerada e indica a tendência do processo de pasteurização para atividade antioxidante pelo método de ABTS do suco tropical de jambolão pasteurizado.

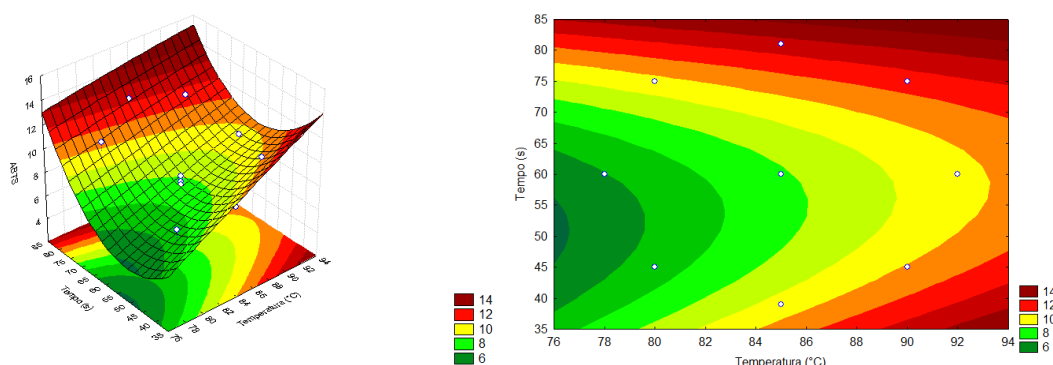


Figura 8. (a) Superfície de resposta quadrática e (b) curvas de nível para avaliação da atividade antioxidante pelo método de ABTS em função do tempo e da temperatura de pasteurização no suco tropical de jambolão.

A atividade antioxidante pelo método de ABTS obteve melhores resultados (Figura 8) quando se fez uso de temperaturas elevadas (86 a 92°C) e tempos longos (75 a 80 s) do suco tropical de jambolão ao processo térmico.

5.5.4 Efeitos da pasteurização sobre a atividade antioxidante pelo método de DPPH

Os resultados da análise estatística da atividade antioxidante pelo método de DPPH são mostrados na Tabela 15.

Tabela 15. Efeito estimado, erro puro e significância estatística atividade antioxidante pelo método de DPPH suco tropical de jambolão pasteurizado.

Fatores	Efeito	Erro puro	(p)
Média	5347,7200	72,5853	0,0001
Temperatura (L)	-984,2800	89,3585	0,0081
Temperatura (Q)	1866,5500	107,2671	0,0031
Tempo (L)	-398,7200	89,3585	0,0467
Tempo (Q)	1320,1700	107,2671	0,0065
Tempo x Temperatura	-1017,2600	125,7386	0,0149

*As constantes em negrito são estatisticamente significativas ao nível de 95% de confiança.

Segundo a Tabela 15, todos os efeitos, isto é, lineares (L), quadráticos (Q) e a interação temperatura x tempo foram significativos ao nível de 5% de significância para a atividade antioxidante pelo método de DPPH do suco tropical de jambolão pasteurizado. Percebeu-se valor negativo para a interação Temperatura x Tempo,

demonstrando que este fator contribue diretamente para diminuição do valor de EC_{50} , ou seja, maior atividade antioxidante, uma vez que o parâmetro EC_{50} é inversamente proporcional à atividade antioxidante, corroborando com o comportamento observado pela atividade antioxidante pelo método de ABTS.

O modelo estatístico proposto para representar a atividade antioxidante pelo método de ABTS do suco tropical de jambolão pasteurizado esta descrita pela Equação 10.

$$AAT(DPPH) = 5347,7190 - 492,1420t_1 + 933,2760t_1^2 - 199,358t_2 + 660,0830t_2^2 - 508,630t_1t_2 \quad (10)$$

Onde: AAT: Atividade antioxidante total t_1 : Temperatura ; t_2 : Tempo.

A partir dos efeitos significativos obtidos, efetuou a análise de variância (ANOVA), disposta na Tabela 16.

Tabela 16. Análise de variância (ANOVA) do modelo de regressão gerado para atividade antioxidante pelo método de DPPH do suco tropical de jambolão pasteurizado.

Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	$F_{\text{calculado}}$	$F_{\text{tabelado}} (p \leq 0,05)$	R^2
Regressão	8.985.548	5	1.797.109,6000	3,7689	5,0503	0,7903
Resíduos	2.384.131	5	476.826,2000			
Falta de Ajuste	2.352.511	3	784.170,3333	49,5996	19,1643	
Erro Puro	31.620	2	15.810,0000			
Total	11.369.679	10				

*SQ: soma quadrática; GL: graus de liberdade; MQ: média quadrática.

Os dados da Tabela 16 mostram que o valor $F_{\text{calculado}}$ da regressão (3,77) foi inferior ao F_{tabelado} (5,05), evidenciando uma regressão não significativa segundo Box et al. (1978). Pois a relação $F_{\text{calculado}}/ F_{\text{tabelado}}$ da regressão pelo método de DPPH apresentou um valor de 0,7463 ficando bem abaixo da relação esperada, isto é, 3. Desta forma o modelo de regressão gerado foi considerado não significativo estatisticamente ao nível de 95% de confiança, expressando uma equação não válida para fins preditos.

O valor de $F_{\text{calculado}}$ para a falta de ajuste (49,60) foi bem superior ao F_{tabelado} (19,16), fornecendo uma alta relação (2,59), o que igualmente não é ideal para a validação do modelo. Para que os dados experimentais sejam considerados bem

ajustados ao modelo, o mesmo deve apresentar uma relação menor que 0,10 para a falta de ajuste.

Além disso, o valor obtido para o R^2 foi de 0,7903, indicando assim que apenas 79% da variação das respostas podem ser explicadas pelo modelo, não sendo útil para fins preditivo segundo preconizado por Barros Neto, Scarminio e Bruns (2010).

Apesar dos resultados obtidos não proporcionarem a geração de um modelo matemático, a superfície de resposta foi gerada e indica a tendência do processo (Figura 9).

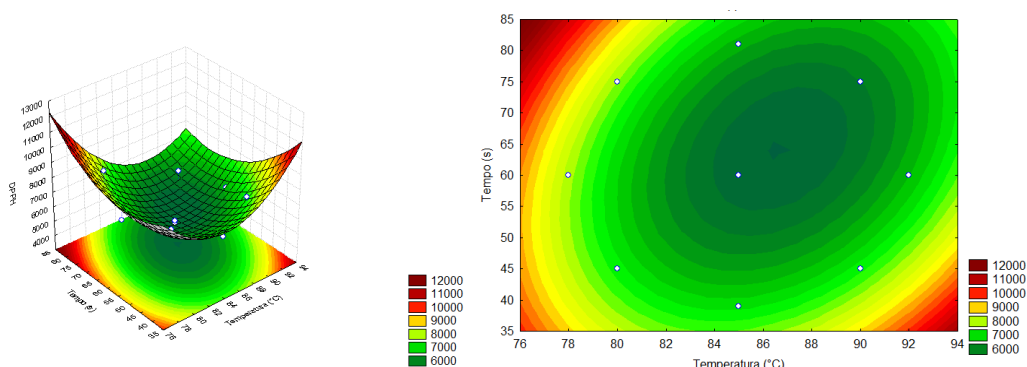


Figura 9. (a) Superfície de resposta quadrática e (b) curvas de nível para avaliação da atividade antioxidante pelo método de DPPH em função do tempo e da temperatura de pasteurização no suco tropical de jambolão.

Maior retenção da atividade antioxidante, obtida através do método de DPPH, encontra-se na faixa de temperatura de 84 a 88°C e tempo entre 50 a 70 s, região compreendida pela cor mais forte do verde (Figura 9).

5.5.5 Avaliação da pasteurização sobre a atividade enzimática (Peroxidase e Polifenoloxidase).

De acordo com a Tabela 7, exceto para atividade da POD no ensaio com tratamentos de 85°C/39s, houve a completa inativação da POD e PFO no suco tropical de jambolão do planejamento experimental, e por isso não foi possível à obtenção dos efeitos, da superfície de resposta e dos dados da Tabela de ANOVA para estas respostas.

O grau de inativação obtidos no presente trabalho foi ligeiramente próximos dos níveis de inativação da POD relatados por Bastos et al. (2008), em seu estudo com a polpa de taperebá, na qual ocorreu uma redução de, pelo menos, 90% da atividade da peroxidase para o tratamento mais brando (70°C por 1 segundo), indicando baixa

resistência da POD na polpa da fruta. O baixo pH provavelmente facilitou esta inativação térmica. Para as demais condições de tratamento térmico (70 °C/60s, 70 °C/300s, 80 °C/s, 80 °C/60 s, 80 °C/600 s, 90 °C/s, 90 °C/60 s e 90 °C/300 s) a atividade residual da enzima pode ser considerada nula.

Nos estudos de Igual et al. (2010) uma inativação de $94,3 \pm 0,7$ % da peroxidase foi alcançada com pasteurização de 80 °C/11 s em suco de toranja. Lourenço e Neves (1997) observaram que a peroxidase de pêssigo apresentou rápida inativação acima de 70 °C, com perda praticamente total após tratamento a 80°C durante 30 segundos.

Valderrama, Marangoni e Clemente (2001) ao analisarem o efeito do tratamento térmico sobre a atividade de peroxidase e polifenoloxidase em maçã, com temperaturas de 60, 65, 70 e 75°C por períodos que variaram de 1 a 10 minutos, observaram diminuição da atividade dessas enzimas com o aumento da temperatura e tempo. No entanto, a peroxidase não chegou a ser inativada em nenhum dos tratamentos realizados. A polifenoloxidase foi inativada totalmente após 10 minutos de tratamento a 75°C.

Os tratamentos térmicos realizados a 90°C por 30s são suficientes para atingir níveis de pasteurização. Os produtores de suco de frutas geralmente realizam tratamentos a 90°C durante 60s para assegurar a estabilidade de seus produtos (TEIXEIRA et al., 2009). Dessa forma, vários autores confirmam essas temperaturas para a obtenção da inativação da peroxidase.

A peroxidase do abacaxi IAC Gomo-de-mel permaneceu estável após 30 minutos de tratamento em temperaturas inferiores a 50°C, retendo mais de 90% de atividade, sendo que após 30 minutos a 70°C a atividade residual foi cerca de 15%. A POD foi inativada após 120 segundos de tratamento a 90°C, não sendo observado regeneração após 3 e 24 horas de incubação em temperaturas de 5°C e 25°C (BRITO et al., 2007).

Teixeira et al. (2009) relataram que os tratamentos térmicos realizado (90°C/30s e 90°C/60s) no suco de cenoura reduziu drasticamente a atividade POD residual até valores abaixo de 5,5%, independentemente do tratamento aplicado. Não foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) na atividade de POD entre os tratamentos, indicando que os processamentos foram eficazes.

Nas pesquisas realizadas por Zanatta, Zotarelli e Clemente (2006), durante o tratamento térmico (60 °C, 65 °C, 70 °C, 75 °C e 80 °C por até 10 min) dos extratos

enzimáticos obtidos da polpa de goiaba, foi observado um decréscimo quase que contínuo da atividade de POD e PFO em todas as temperaturas, tendo, porém, um maior decréscimo nos primeiros minutos. Os tratamentos térmicos aplicados não foram capazes de inativar totalmente estas enzimas, estando de acordo com Alvim e Clemente (1998), que atribuem às isoenzimas termoestáveis as possíveis causas pela dificuldade na inativação completa das enzimas estudadas.

Estas diferenças na atividade enzimática podem ser atribuídas a diferenças na fonte de enzima e meio de tratamento. Enzima POD pode ser encontrada em vegetais como duas isoenzimas, uma forma é usualmente mais resistente ao calor do que a outra (TEIXEIRA et al., 2009).

5.5.6 Perfis da função desejabilidade

Com os resultados da técnica de superfície de respostas observou valores máximos e mínimos de fenólicos totais, antocianinas totais, atividade antioxidante (método DPPH e ABTS) e atividade enzimática (peroxidase e polifenoloxidase) e demonstraram claramente que cada tratamento aplicado do presente estudo gera respostas com características diferenciadas. Em virtude disso, é necessário aplicar uma função de otimização para achar um tratamento que possua a mínima perda dos compostos fenólicos, atividade antioxidante e a máxima perda da atividade da peroxidase.

Nesse sentido, no presente estudo foram adotados critérios com base nas restrições anteriores para os valores mínimos e máximos de cada resposta estudada para encontrar valores operacionais ótimos das variáveis independentes que satisfaçam simultaneamente todos os requisitos necessários às variáveis respostas (função desejabilidade) como mostra a Tabela 17.

Tabela 17: Condições de desejabilidade (d_i) das variáveis respostas durante a otimização da pasteurização do suco tropical de jambolão.

Variável resposta		Mínimo	Mínimo	Máximo	s	t
FT	Valor	90,160	95,347	100,53	5,00	5,00
	d_i^*	0,00	0,00	1,00		
AT	Valor	55,810	61,475	67,140	5,00	5,00
	d_i	0,00	0,00	1,00		
ABTS	Valor	4,7200	8,380	12,040	5,00	5,00
	d_i	0,00	0,00	1,00		
DPPH	Valor	5218,0	6852,8	8487,6	5,00	5,00

	d_i	1,00	0,00	0,00		
POD	Valor	0,00	0,0500	0,100	5,00	5,00
	d_i	1,00	0,00	0,00		

*= Condições de desejabilidade; FT: Fenólicos totais; AT: Antocianinas totais; POD: Peroxidase; Expoentes s e t.

Os perfis de desejabilidade representam o diagrama da função desejabilidade para a descrição das condições otimizadas da pasteurização do suco tropical de jambolão dentro das faixas de valores estabelecidos nos ensaios experimentais, e estão apresentados na Figura 10.

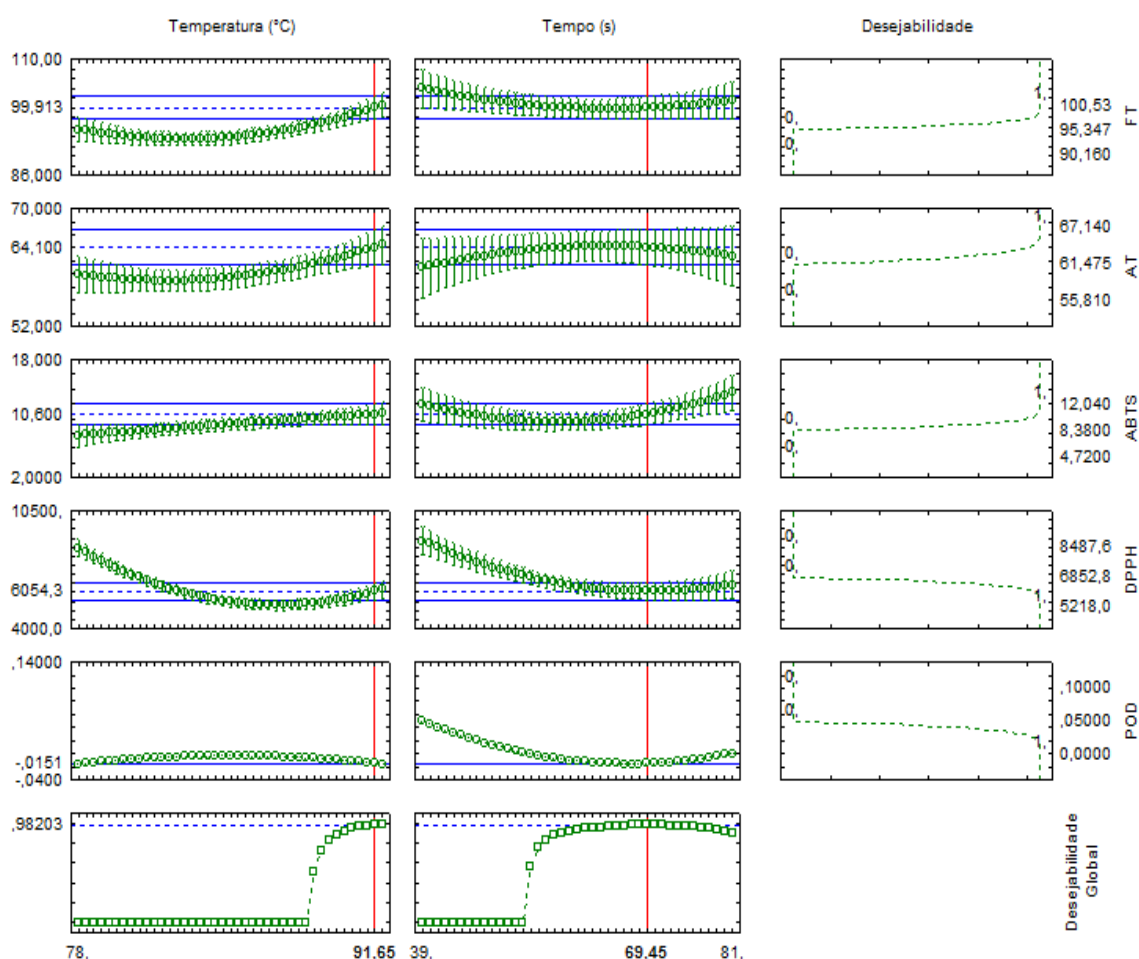


Figura 10: Perfil dos valores preditos e desejabilidade para as respostas de FT (fenólicos totais), AT (antocianinas totais), ABTS, DPPH e POD (peroxidase).

Na Figura 10 podem ser observados dois grupos de gráficos. Aqueles localizados acima apresentam os valores desejáveis para as duas condições de interesse considerando o limite de confiança referente ao valor ótimo das respostas.

No segundo grupo, apresentam-se as tendências reveladas pelas condições temperatura e tempo, onde a linha azul tracejada representa o valor ótimo. O intercepto da linha azul tracejada com o máximo do gráfico demonstra claramente a condição ótima da pasteurização para se obter a máxima retenção dos fenólicos totais,

antocianinas totais, atividade antioxidante e a completa inativação das enzimas (POD e PFO) do suco tropical de jambolão, a qual corresponde a temperatura de 92 °C e tempo de 70 s. As linhas verticais, em vermelho, sinalizam as condições de máxima desejabilidade global, que para a pasteurização, alcançou 0,98203, como pode ser visualizado na última linha azul tracejada da Figura 10.

A condição ótima encontrada vem corroborar com os estudos sobre tratamento térmico que recomendam a utilização de tempos curtos em altas temperaturas para melhor retenção dos constituintes dos alimentos (KECHINSKI et al., 2010; DUTRA et al, 2012).

6 CONCLUSÃO

A otimização dos parâmetros tempo e temperatura no processo de pasteurização térmica, determinados através da função desejabilidade, mostrou que a melhor condição para se obter a máxima retenção dos fenólicos totais, antocianinas totais, atividade antioxidante e a completa inativação das enzimas (POD e PFO) deve-se fazer uso da temperatura de 92 °C por tempo de 70 s para o suco tropical de jambolão deste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, T. C. et al. Polifenoloxidase: uma enzima intrigante. **Ciência e Tecnologia: FATEC-JB**, v. 3, n. 1, p. 83-93, 2011.

ALVIM, K.; CLEMENTE, E. Estudo da termoestabilidade de peroxidase extraídas da polpa e casca de mexerica (*Citrus deliciosa*). **Acta Scientiarum**, v. 2, n. 3, p. 201-204, 1998.

ALTUNKAYA, A.; GOKMEN, V. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). **Food Chemistry**, v.107, p.1173–1179, 2008.

ANGELO, P, M; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.66, n.1, p.1-9, 2007.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC international**. 17^a ed., Washington, 2002.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists**. 16 ed. 3 rev. Washington, 1997.

AYYANAR, M.; SUBASH-BABU, P. *Syzygium cumini* (L.) Skeels: A review of its phytochemical constituents and traditional uses. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, p.240-246, 2012.

BALIGA, M. S. Anticancer, Chemopreventive and Radioprotective Potential of Black Plum (*Eugenia Jambolana* Lamark). **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v.12, n.1, p.3-15, 2011.

BANERJEE, A.; DASGUPTA, N.; DE, B. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. **Food Chemistry**, v.90, p.727–733, 2005.

BARCIA, M. T.; PERTUZATTI, P. B.; JACQUES, A. C.; GODOY, H. T.; ZAMBIAZI, R. Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Percent Composition of Jambolão Fruits (*Syzygium cumini*). **The Natural Products Journal**, v.2, p. 129-138, 2012.

BARCIA, M. T. **Composição centesimal e de fitoquímicos em jambolão (*Syzygium cumini*)**. Rio Grande do Sul, 2008. 65 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e tecnologia em alimentos) Universidade Federal de Pelotas.

BARROS N. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Porto Alegre. Bookman, 2010.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. Conservação de alimentos por tratamento térmico. In: **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, v. 3, Cap.5, 1998.

BASTOS, C. T. R. M.; LADEIRA, T. M. S.; ROGEZ, H.; PENA, R. S. Estudo da Eficiência da Pasteurização da Polpa de Taperebá (*Spondias Mombin*). **Alimentos e Nutrição**, v.19, n.2, p.123-131, 2008.

BENHERLAL, P. S.; ARUMUGHAN, C. Chemical composition and in vitro antioxidant studies on *Syzygium cumini* fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.87, p.2560–2569, 2007.

BERTO, M. I.; SA, F. R.; SILVEIRA JR., V. Avaliação de controles PID adaptativos para um sistema de aquecimento resistivo de água. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.3, p.478-485, 2004.

BIGONIYA, P.; SINGH, C. S.; SRIVASTAVA, B. Pharmacognostical and physico-chemical standardization of *Syzygium cumini* and *Azadirachta indica* seed. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.2, p.290-295, 2012.

BOX, G.E.P.; WILSON, K.B. On the experimental attainment of optimum conditions. **Journal of the Royal Statistical Society**, v.B13, p.1-45, 1951.

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for experimenters. An introduction to design, data analysis and model building**. Nova York: Editora Wiley, 1978.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Instrução Normativa nº 01, de 7 De Janeiro de 2000. Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de fruta. **Diário Oficial da União**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), 2000.

BRASIL. Instrução Normativa nº 12 de 04 de setembro de 2003. Regulamento Técnico para a Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade Gerais para Suco Tropical. **Diário Oficial da União**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), 2003.

BRITO, C. A. K.; SATO, H. H.; SPIRONELLO, A.; SIQUEIRA, W. J. Abacaxi IAC gomo-de-mel (*Ananas comosus* (L.) Merrill): características da polpa e da peroxidase do suco. **Boletim do Centro Pesquisa Processamento de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 257-266, 2007.

BRITO, E. S.; ARAÚJO, M. C. P.; ALVES, R. E.; CARKEET, C.; CLEVIDENCE, B. A.; NOVOTNY, J. A. Anthocyanins Present in Selected Tropical Fruits: Acerola, Jambolão, Jussara, and Guajiru. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.23, p.9389-94, 2007.

CARRATU, E; SANZINI, E. Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetable. **Annali dell'Istituto Superiore di Sanità**, v.41, n.1, p.7-16, 2005.

CHIM, J. F. **Caracterização de compostos bioativos em amora-preta (*Rubus sp.*) e sua estabilidade no processo e armazenamento de geléias convencional e light**. 2008. p.87. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Universidade Federal de Pelotas.

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

CLERICI, M. T. P. S.; CARVALHO-SILVA, L. B. Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. **Food Research International**, v.44, p.1658–1670, 2011.

CONNOR, A. M. et al. Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold-temperature storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 4, p. 893-898, 2002.

DUTRA, A. S. et al. Efeito do tratamento térmico na concentração de carotenoides, compostos fenólicos, ácido ascórbico e capacidade antioxidante do suco de tangerina murcote. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 3, p. 198-207, 2012.

EIDHIN, D. M.; MURPHY, E.; O'BEIRNE, D. Polyphenoloxidase from apple (*malus domestica* Borkh. Cv Bramley's Seedling): purification strategies and characterization. **Journal of Food Science**, v.7, n.1, p. 51-58, 2005.

ESPIN, J.C., VARON, R., FENOLL, L.G., GILABERT, M.A., GARCIA-RUIZ, P.A., TUDELA, J., GARCIA-CANOVAS, F.. Kinetic characterization of the substrate specificity and mechanism of mushroom tyrosinase. **European Journal of Biochemistry**, v.267, p.1270-1279, 2000.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 2003.

FAGUNDES, G. R.; YAHANISHI, O. K. Características físicas e químicas de frutos de mamoeiro do grupo 'solo' comercializados em 4 estabelecimentos de Brasília – DF. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 541-545, 2001.

FALCÃO, A. P.; CHAVES, E. S.; KUSKOSKI, E. M.; FET, R.; FALCÃO, L. D.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade antioxidante de um sistema modelo de geléia de uvas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 637-642, 2007.

FARIA, A. F., MARQUES, M. C., MERCADANTE, A. Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chemistry**, v.126, p. 1571-1578, 2011.

FERREIRA, D. S.; ROSSO, V. V.; MERCANTE, A. Z. Compostos bioativos presentes em amora-preta (*Rubus* spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 3, p. 664-674, 2010.

FREITAS, A. A et al. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geleias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n.1, p. 172-177, 2008.

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

GAMARRA, F. M. C.; LEME, G. C.; TAMBOURGI, E. B.; BITTENCOURT, E. Extração de corantes de milho (*Zea mays* L.) **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.1, p.62-69, 2009.

GARCÍA-LARA, S.; ARNASON, J. T.; DÍAZ-PONTONES, D.; GONZALEZ, E.; BERGVINSON, D. J. Soluble peroxidase activity in maize endosperm associated with maize weevil resistance. **Crop Science**, v.47, p.1125-1130, 2007.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. **Biochemical Engineering Journal**, v.14, n.3, p.217–225, 2003.

GOFFEY, D. G.; CLYDESDALE, F. M.; FRANCIS, F. J.; DAMON JR., R. A. Stability and complexation of cyaniding-3-glucoside and raspberry juice extract in the presence of selected cations. **Journal of Food Protection**, v.44, n.7, p.516- 523, 1981.

GORDON, A.; JUNGFER, E.; SILVA, B. A.; MAIA, J. G. S.; MARX, F. Phenolic Constituents and Antioxidant Capacity of Four Underutilized Fruits from the Amazon Region. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p.7688–7699, 2011.

GUNES, G.; BLUM, L. K.; HOTCHKISS, J. H.. Inactivation of yeasts in grape juice using a continuous dense phase carbon dioxide processing system. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.85, p.2362–2368, 2005.

HAMID, M.; REHMAN, K. Potencial applications of peroxidases. **Food Chemistry**, v.115, n.4, p.1177-1186, 2009.

HOLSCHUCH, H. J. **Isolamento, purificação e caracterização bioquímica da peroxidase de carambola (*Averrhoa carambola*, L.)** 2000. 159 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

HUBBARD, M. R. **Statistical quality control for the food industry: Desingn of Experiments**. 3ed. New York: Kluwer Academic, 2003. Cap.12, p. 232-252.

IGUAL, M.; GARCÍA-MARTÍNEZ, E.; CAMACHO. M.M.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. Effect of thermal treatment and storage on the stability of organic acids and the functional value of grapefruit juice. **Food Chemistry**, v. 118, p. 291–299, 2010.

LAGO, E.S.; GOMES, E.; SILVA, R. Produção de geleia de jambolão (*Syzygium cumini* Lamarck): Processamento, parâmetros físico-químicos e avaliação sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, p.847-852, 2006.

LAGO-VANZELA, E. S.; SANTOS, G. V.; LIMA, F. A.; GOMES, E.; DA-SILVA, R. Physical-chemical, caloric and sensory characterization of light jambolan (*Syzygium cumini* Lamarck) jelly. **Ciência Tecnologia em Alimentos**, v. 31, n. 3, p. 666-673, 2011.

LEE, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of Pigment Analyses in Cranberries. **HortScience**, v. 7, n. 1, p. 83-84, 1972.

LI, L; ZHANG, Y; SEERAM, N. P. Structure of anthocyanins from Eugenia jambolana fruit. **Natural Product Communications**, v.4, n.2, p.217-9, 2009.

LIMA, E. D. P. A.; LIMA, C. A. A.; ALDRIGUE, M. L.; GONDIM, P. J. S. **Umbu- cajá (*Spondias spp*) aspectos de pós-colheita e processamento**. Ed Universitária/Ideia, João Pessoa, 57p, 2002.

- LIMA, L. A. et al. Correlation of anti-inflammatory activity with phenolic content in the leaves of *Syzygium cumini* (L.) skulls (Myrtaceae). **Química Nova**, v.30, n.4, p.860-864, 2007.
- LIN, Y. M.; ZHANG, L. L. Antioxidant tannins from *Syzygium cumini* fruit. **African Journal of Biotechnology**, v.8, n.10, p. 2301-2309, 2009.
- LIRA JÚNIOR, J. S.; MUSSER, R. S.; MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LEDERMAN, I. E. ; SANTOS, V. F. Caracterização física e físico-química de frutos de cajá-umbu (*Spondias spp.*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.757-761, 2005.
- LIU, R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **Journal of Nutrition**, v.134, p.3479-85, 2004.
- LIU, R. H. Dietary Bioactive Compounds and Their Health Implications. **Journal of Food Science**, v.78, n.1, p.18-25, 2013.
- LOGUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A. C.; HENZEL, A.; WITT, N. M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jabolão (*Syzygium cumini* (L.) Skulls). **Ciência Rural**, v.35, n.2, p.371-376, 2005.
- LOURENÇO, E. J.; NEVES, V. A. Peroxidase solúvel de pêssego: purificação parcial e propriedades. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.17, n.1, p.42-48,1997.
- LUXIMON-RAMMA, A.; BAHORUN, T.; CROZIER, A. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.83, p.496–502, 2003.
- LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Composição centesimal, potencial antioxidante e perfil dos ácidos graxos de sementes de jabolão (*Syzygium cumini*). **Revista Ciência Agrônômica**, v. 40, p. 219-223, 2006.
- KAVRAYAN, D.; AYDEMIR, T. Partial purification and characterization of polyphenoloxidase from peppermint (*Mentha piperita*). **Food Chemistry**, v.74, n.2, p. 147–154, 2001.
- KHAN, A. A.; ROBINSON, D. S. Hydrogen donor specificity of mango isoperoxidases. **Food Chemistry**, v. 49, n. 4, p. 407-410, 1994.
- KECHINSKI, C. P.; GUIMARÃES, P. V. R.; NOREÑA, C. P. Z.; TESSARO, I. C.; MARCZAK, L. D. F. Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. **Journal of food science**, v.75, p.C173-C176, 2010.
- KIM, D.O.; JEONG, S.W.; LEE, C.Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**, v.81, n.3, p.321-326, 2003.
- KONG, J.; CHIA, L.; GOH, N.; CHIA, T.; BROUILLARD, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v.64, p.923–933, 2003.
- KUSKOSKI E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicacion de diversos métodos químicos para determinar actividad

- antioxidant en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.726-732, 2005.
- MACHADO, W. M.; PEREIRA, A. D.; MARCON, M. V. Efeito do processamento e armazenamento em compostos fenólicos presentes em frutas e hortaliças. **Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias**, v.19, n.1, p.17-30, 2013.
- MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; REMESY, C.; JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal Of Clinical Nutrition**, v.79, n.5, p.727-747, 2004.
- MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P. (Ed.) **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. p. 163-180.
- MARTINEZ, M. V.; WHITAKER, J. R. The biochemistry and control of enzymatic browning. **Trends in Food Science e Technology**, v.6, p.195-200, 1995.
- MATEUS, N. B.; BARBIN, D.; CONAGIN, A. Viabilidade de uso do delineamento composto central. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 6, p. 1537-1546, 2001.
- MATTIETTO, R. A.; LOPES, A. S.; MENEZES, H. C.. Caracterização física e físico-química dos frutos da cajazeira (*Spondias mombin* L.) e de duas polpas obtidas por dois tipos de extrator. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.13, p.156-164, 2010.
- MAYER, A. M. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. **Phytochemistry**, v.67, p.2318-2331, 2006.
- MENDONÇA, L. A. **Desempenho do delineamento composto central em experimentos com alto coeficiente de variação**. Dissertação (mestrado em estatística aplicada). Universidade Federal de viçosa. 68p, 2012.
- MIGLIATO, K. F.; BABY, A. R.; ZAGUE, V.; VELASCO, M. V. R.; CORRÊA, M. A.; SACRAMENTO, L. V. S.; SALGADO, H. R. N. Ação farmacológica de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v.25, p.310-304, 2006.
- MIGLIATO, K. F.; MOREIRA, R. R. D; MELLO, J. C. P; SACRAMENTO, L. V. S; CORRÊA, M. A; SALGADO, H. R. N. Controle da qualidade do fruto de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p. 94-101, 2007.
- MILLER, N. J.; DIPLOCK, A. T., RICE-EVANS, C.; DAVIES, M. J.; GOPINATHAN, V.; MILNER, A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, v. 84. n. 4, p. 407-412, 1993.
- MODI, D.C.; PATEL, J.K.; SHAH, B. N.; NAYAK, B. S. Pharmacognostic studies of the seed of *syzygium Cumini* linn. **Pharma science monitor**, v.1, n.1, 2010.
- MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, n. 02, p. 145-171, 2001.

MOYER, R. A.; HUMMER, K. E.; FINN, C. E.; FREI, B.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity in diverse small fruits: Vaccinium, rubus and ribes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.519–525, 2002.

MYERS, R. H.; MONTGOMERY, D. D. **Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments**. New York: John Wiley e Sons, 700 p., 1995.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v.1054, p.95-11, 2004.

OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri: Manole, 2006.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: Artmed, v.1, p.294, 2005.

ÖZOGLU, H.; BAYMDIRH, A. Inhibition of enzymatic browning in cloudy apple juice with selected antibrowning agents. **Food Control**, v.13, p.213-221, 2002.

PATRAS, A.; BRUTON, N. P.; O'DONNELL, C.; TIWARI, B.K. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. **Trends in Food Science e Technology**, v. 21, n. 1, p. 3-11, 2010.

PAUL, D. K.; SHAHA, R. K. Nutrients, vitamins and mineral content in common citrus fruits in the northern region of Bangladesh. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.7, p.238–242, 2004.

PELAIS, A. C. A.; ROGEZ, H.; PENA, R. S. Estudo da pasteurização da polpa de muruci. **Alimentos e Nutrição**, v.19, n.1, p. 17-24, 2008.

PEREIRA, M. C.; STEFFENS, R. S.; JABLONSKI, A.; HERTZ, P. F.; RIOS, A. O.; VIZZOTTO, M.; FLÔRES, S. H. Characterization and Antioxidant Potential of Brazilian Fruits from the Myrtaceae Family. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, p.3061–3067, 2012.

PEREIRA R. J.; CARDOSO M. G.; GOMES M. S.; ANDRADE M. A.; ANDRADE J.; PEREIRA R. J. Potencial antioxidante de frutos de duas espécies de jabolão: *Syzygium Cumini* (L.) Skeels e *Syzygium Paniculatum* Gaertn. **Sociedade Portuguesa de Ciência da Nutrição e Alimentação**, v.18, n.3, 2012.

PEREIRA, R. N.; VICENTE, A. A. Environmental impact of novel thermal and non-thermal technologies in food processing. **Food Research International**, v.43, p.1936–194, 2010.

POTTER, N. N.; HOTCHKISS, J. H. **Milk and milk products**. New York: Chapman and Hall, 1995.

RIVAS, A.; RODRIGO, D.; MARTÍNEZ, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; RODRIGO, M. Effect of PEF and heat pasteurization on the physical-chemical

characteristics of blended orange and carrot juice. **LWT – Food Science and Technology**, v. 39, n. 10, p. 1163-1170, 2006.

RODRIGUES, Rosane et al.. **Estrutura, Fisiologia e composição de frutas e hortaliças**. Módulo I. Pelotas, 2007. 43p.

RUI, L.; PING, W.; QING-QI, G.; ZHEN-YU, W. Anthocyanin composition and content of the *Vaccinium uliginosum* berry anthocyanins, and organic acids, against *Escherichia coli* O157:H7. **Food Chemistry**, v.125, p.116–120, 2011.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PEREZ JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p.996–1002, 2010.

RUFINO, M. S. M.; FERNANDES, F. A. N.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. Free radical-scavenging behavior of some North-east Brazilian fruits in DPPH system. **Food Chemistry**, v.114, p.693–695, 2009.

SÁ, A. P. C. S. **Potencial antioxidante e aspectos químicos e físicos das frações comestíveis (polpa e cascas) e sementes de jamelão (*syzygium cumini*, L. Skeels)**. Rio de Janeiro, 2008. 88p. Dissertação (Mestrado em Ciência e tecnologia em alimentos) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 76, n. 2, p. 270-276, 1998.

SANTOS, M. B.; CARDOSO, R. L.; FONSECA, A. A. O.; CONCEIÇÃO, M. N. Caracterização e qualidade de frutos de umbu-cajá (*Spondias tuberosa x S. mombin*) provenientes do recôncavo sul da bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1089-1097, 2010.

SCIPIONI, G. C. **Otimização de processo de sacarificação do amido de batata (*solanum tuberosum* L.) utilizando enzimas amilolíticas**. 2011. 95p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de processos), Universidade Federal de Santa Maria.

SEVERO, J. et al.. Avaliação de compostos fenólicos, antocianinas, vitamina C e capacidade antioxidante em mirtilo armazenado em atmosfera controlada. **Brazilian Journal of Food Technology**. II SSA, 2009.

SILVA, J. A. **Tópicos da tecnologia de alimentos**. São Paulo: Varela, 2000.

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

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, n.3, p.144-158, 1965.

SIVASUBRAMANIAM, K.; SELVARANI, K.. Viability and vigor of jamun (*Syzygium cumini*) seeds. **Brazilian Journal of Botany**, v.35, n.4, p.397-400, 2012.

SMIT, G. **Dairy processing – improving quality**. 1a. ed. Cambridge: CRC Press, 2000. 554 p.

SOYSAL, C.; SOYLEMEZ, Z. Kinetics and inactivation of carrot peroxidase by heat treatment. **Journal of Food Engineering**, v.68, p.349–56, 2005.

SOUSA, M. M. **Compostos bioativos e atividade antioxidante do fruto e do licor de jamelão (*Syzygium cumini*)**. Dissertação (mestrado em Alimentos e nutrição). 2012. p.99. Universidade Federal do Piauí.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de resíduos de polpas de frutas tropicais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 3, p. 1-9, 2011.

SOUZA, C. N., **Características físicas, físico-químicas e químicas de três tipos de jenipapos (*Genipa americana* L.)**. Dissertação (mestrado em Produção vegetal). 2007. P. 58. Universidade estadual de santa cruz.

STATSOFT. Statistica for windows- Computer programa manual. Versão 7.0 Tulsa: statsoft Inc. 2007.

STEYN, W. J.; WAND, S. J. E.; HOLCROFT, D. M.; JACOBS, G.. Anthocyanins in vegetative tissues: a proposed unified function in photoprotection. **New Phytologist**, v.155, p.349–361, 2002.

SUGAI, A. Y. **Processamento descontínuo de purê de manga (*mangifera indica* Linn.), variedades Haden: estudo da viabilidade do produto para pronto consumo**. 2002. 82p. Dissertação (Mestrado em Engenharia). Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.

SUN, J. et al. Membrane deterioration, enzymatic browning and oxidative stress in fresh fruits of three litchi cultivars during six-day storage. **Scientia Horticulturae**, v.148, p.97–103, 2012.

SWAMI, S. B.; THAKOR, N. S. J.; PATIL, M. M.; HALDANKAR, P. M. Jamun (*Syzygium cumini* (L.)): A Review of Its Food and Medicinal Uses. **Food and Nutrition Sciences**, v.3, p.1100-1117, 2012.

TEIXEIRA, C. C.; FUCHS, F. D. The efficacy of herbal medicines in clinical models: The case of jambolan. **Journal of Ethnopharmacology**, v.108, p.16–19, 2006.

TEIXEIRA, C. K. B.; NEVES, E. C. A.; PENA, R. S. Study of the pasteurization process of graviola's pulp. **Alimentos e Nutrição**, v.17, n.3, p.251-257, 2006.

TEIXEIRA, L. J. Q.; SERRANO, I. O.; FORTUNY, R. S.; RAMOS, A. M.; BELLOSO, O. M. Comparative study on antioxidant properties of carrot juice treated by HIPEF or heat-intensity pulsed electric fields or heat treatments. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.89, p. 2636–2642, 2009.

TEIXEIRA, L. J. Q.; FORTUNY, R. S.; RAMOS, A. M.; BELLOSO, O. M. Kinetics of Peroxidase Inactivation in Carrot Juice Treated with Pulsed Electric Fields. **Journal of Food Science**, v.78, n.2, p.222–228, 2013.

TERESA, S. P.; BALLESTA, M. T. S. Anthocyanins: from plant to health. **Phytochemistry Reviews**, v.7, p.281–299, 2008.

TOIVONEN, P. M. A.; BRUMMELL, D. A. Review: biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, p.1-14, 2008.

TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; ESPÍN, J. C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v, 81, n. 9, p.853–876, 2001.

UMME, A.; SALMAH, Y.; JAMILAH, B.; ASBI, B. A. Microbial and enzymatic changes in natural soursop puree during storage. **Food Chemistry**, v.65, n.3, p. 315–322, 1999.

VALDERRAMA, P.; MARANGONI, F.; CLEMENTE, E. Efeito do tratamento térmico sobre a atividade de peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em maçã (*Mallus comunis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.3, p.321-325, 2001.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v.111, p.816–823, 2008.

VEIGAS, J. M.; NARAYAN, M. S.; LAXMAN, P. M.; NEELWARNE, B. Chemical nature, stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *Syzygium cumini* Skeels. **Food Chemistry**, v.105, p.619–627, 2007.

VIZZOTTO, M.; CABRAL, L. M. C.; LOPES, A. S. **Pitanga (*Eugenia uniflora* L.), Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits: v.4: Mangosteen to white sapote**, 2011.

WANG, W. D.; XU, S. Y. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. **Journal of Food Engineering**, v. 82. n. 3, p. 271–275, 2007.

WROLSTAD, R. E. Anthocyanin Pigments- Bioactivity and Coloring Properties. **Journal of Food Science**, v.69, n.5, p.C419-C421, 2004.

ZANATTA, C. L.; ZOTARELLI, M. F.; CLEMENTE, E. Peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em polpa de goiaba (*Psidium guajava* R.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.3, p. 705-708 2006.