

Influência do tratamento enzimático sobre as características reológicas e microscópicas da polpa de acerola

Luciana Balischi, Nehemias Curvelo Pereira, Oswaldo Curty da Motta Lima, Sueli Teresa Davantel de Barros, João Walker Damasceno e Elisabete Scolin Mendes*

Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência. e-mail: bete@deq.uem.br

RESUMO. O consumo de sucos e bebidas à base de frutas tem aumentado consideravelmente nos últimos anos. No Brasil, destaca-se a produção da acerola (alto teor de vitamina C) e de seus derivados. Objetivando melhoramentos na fabricação de sucos e derivados de frutas tropicais, surgiram pesquisas visando a encontrar o melhor tratamento enzimático. Neste trabalho, estudou-se a variação que ocorre na reologia da polpa integral de acerola submetida ao tratamento enzimático, bem como a variação no diâmetro médio das partículas, para as melhores condições de tratamento obtidas. Duas enzimas comerciais foram testadas: Citrozym Ultra L e Pectinex Ultra SP-L, variou-se as temperaturas, as concentrações das enzimas e os tempos de tratamento. As características reológicas e microscópicas da polpa sofreram alterações com o tratamento enzimático.

Palavras-chave: acerola, reologia, tratamento enzimático, caracterização microscópica.

ABSTRACT. Enzymatic treatment influence on rheological and microscopic characteristics of acerola pulp. Fruit juice drinks consumption has been increasing considerably in the last years. In Brazil, acerola and its by-products production stands out (high vitamin C content). Researches on improvements in juice and tropical fruits derived production appeared, seeking to find better enzymatic treatments. This work studied the acerola integral pulp rheological variation, when submitted to enzymatic treatment, as well as the particles medium diameter variation, to obtain the best treatment conditions. Two commercial enzymes were tested: Citrozym Ultra L and Pectinex Ultra SP-L. The temperatures, enzyme concentrations and treatment times were varied. The pulp rheological and microscopic characteristics suffered alterations with the enzymatic treatment.

Key words: acerola, rheology, enzymatic treatment, microscopic characterization.

Introdução

No início da década de 30, as indústrias que comercializavam apenas frutas começaram também a produzir seus respectivos sucos. A produção industrial inicial apresentava baixos rendimentos, em consequência de dificuldades encontradas para se realizar a etapa de filtração e para se obter uma clarificação aceitável dos sucos (Uhlig, 1998, citado por Bhat, 2000). O suco resultante das frutas despolpadas era rico em partículas insolúveis e em materiais suspensos constituídos, principalmente, por substâncias pécicas, polissacarídeos em geral (como, por exemplo, celulose, hemicelulose e o amido), proteínas, taninos, metais e microorganismos (Kashyap *et al.* 2001; Fernandes, 1999).

Dessa forma, tornou-se imprescindível a pesquisa sobre diferentes processos industriais que

proporcionassem um melhor rendimento na produção, sucos de bom aspecto e dentro dos padrões de qualidade. Segundo Petrus (1997), esses processos podem ser divididos em: físicos, químicos e bioquímicos. As pesquisas desenvolvidas sobre os processos bioquímicos indicaram a utilização de enzimas de maceração (pectinases, celulasas e hemicelulasas) durante o processo de industrialização, principalmente como pré-tratamento para sucos a serem clarificados por micro ou por ultrafiltração.

O tratamento enzimático afeta a viscosidade do produto, pois reduz o tamanho das macromoléculas presentes. Segundo Trifiró *et al.* (1987), citados por Queiroz (1998), sucos e purês são considerados, sob o ponto de vista reológico, como fluidos pseudoplásticos, e o afastamento do comportamento newtoniano é determinado pelo conteúdo de polpa

do produto, acrescentando que sucos despulpados, ou com pouca polpa, se comportam como newtonianos. Aumentado-se o conteúdo de polpa, aumenta-se o caráter pseudoplástico. Uma ação enzimática ou mecânica, que modifique a estrutura da polpa, terá repercussão no seu comportamento reológico. Observando a dependência em relação ao teor de sólidos insolúveis, da viscosidade aparente a 300 s^{-1} , Queiroz (1998) concluiu que a fração de sólidos do suco de abacaxi, passado em malha de 0,149 mm, apresentou comportamento newtoniano e que a eliminação das partículas com dimensões inferiores a esse valor pouco influenciou na redução da viscosidade.

Segundo Barros (2002), o tratamento enzimático aumenta o tamanho das partículas de sólidos suspensos, devido à redução da repulsão eletrostática entre as nuvens de partículas, fazendo-as se agruparem. No trabalho desse autor, constatou-se que o diâmetro médio das partículas de suco de acerola integral de um lote, denominado lote 1, foi de $0,74 \mu\text{m}$ e após o tratamento enzimático de $0,94 \mu\text{m}$. Ainda nesse trabalho, para o suco de outro lote, denominado lote 2, o diâmetro médio das partículas após tratamento enzimático, foi de $1,28 \mu\text{m}$, enquanto o suco de abacaxi integral obteve o diâmetro médio de partícula de $1,28 \mu\text{m}$ e após o tratamento enzimático, de $1,38 \mu\text{m}$.

A classificação granulométrica de partículas pode ser feita por diversos métodos. O método de microscopia é, certamente, o método direto mais utilizado para determinação de propriedades dimensionais, de forma quantitativa e qualitativa, de partículas. Uma das principais limitações que reduzia a aplicação da microscopia no passado era o tempo necessário de análise e a influência do operador nos resultados obtidos, pois as partículas eram analisadas individualmente por visualização, a partir de fotografias obtidas em microscópio. Esse tipo de problema foi eliminado utilizando-se câmeras digitais conectadas aos microscópios e aos softwares, para a análise das fotografias digitalizadas. Por meio dessa técnica a quantidade de partículas analisadas é bem mais representativa, o tempo de análise é menor e a análise elimina a influência humana nessa etapa (Deganutti, 1999).

Caracterização reológica

A viscosidade é uma importante propriedade física relacionada à qualidade de produtos alimentícios fluidos. Dados reológicos são essenciais para o projeto e avaliação dos equipamentos da indústria de processamento de alimento, como: bombas, trocadores de calor, evaporadores,

misturadores, enchedeiras, filtros (convencionais e por membranas) e tubulações em geral.

A reologia é a ciência que estuda o escoamento de fluidos, a resposta dos materiais, quando submetidos a forças externas.

A viscosidade é a resistência dos fluidos ao escoamento e pode ser considerada como sinônimo de atrito interno. A força por unidade de área necessária para produzir o movimento é denominada τ ou tensão de cisalhamento e é proporcional ao gradiente de velocidade ou taxa de deformação, γ . A constante de proporcionalidade entre ambas é chamada de índice de consistência (K).

A expressão mais correta para descrever o comportamento reológico dos fluidos que não mudam seu comportamento com o tempo é a expressão de Herschel-Bulkley.

$$\tau = \tau_0 + K (\gamma)^n \quad (1)$$

Geralmente, os fluidos alimentícios são um caso especial dessa expressão, na qual a tensão limite de escoamento (τ_0) é nula, ou se assume como zero, de forma que a equação (1) transforma-se em:

$$\tau = K (\gamma)^n \quad (2)$$

conhecida como modelo Power-law.

Os fluidos que obedecem ao postulado de Newton são chamados de fluidos newtonianos. O escoamento acontece logo que a tensão é aplicada, e o coeficiente de viscosidade é independente da taxa de deformação e da tensão de cisalhamento, sendo o expoente de comportamento, n igual a 1. O coeficiente de consistência (K), nesse caso, é denominado de viscosidade e é representado por μ .

Os fluidos não-newtonianos são caracterizados pela viscosidade aparente η a uma taxa de deformação específica.

$$\tau = \eta \cdot \gamma \quad (3)$$

Caracterização de partículas

A caracterização da distribuição de tamanho de partículas é uma das características importantes que afetam a clarificação do produto tratado enzimaticamente e consequentemente o desempenho dos processos de ultrafiltração, que utilizam-no como pré-tratamento. Segundo Barros (2002), dependendo da distribuição do tamanho das partículas do produto a ser ultrafiltrado e dos poros da membrana, pode ocorrer um bloqueio completo ou parcial destes, com conseqüente formação de uma camada secundária, que passa, então, a

constituir o próprio meio filtrante. Esses mecanismos influem diretamente no fluxo de permeado da membrana.

Dessa forma, torna-se necessária a análise da distribuição do tamanho das partículas da polpa submetida ao tratamento enzimático, para se obter uma posterior ultrafiltração eficiente.

Modelos de distribuição granulométrica

Dentre os modelos mais utilizados em distribuições granulométricas, destacam-se três, os quais descrevem satisfatoriamente a maioria dos casos de interesse: Gates-Gaudin-Schumann (GGS), Rosin- Rammler-Bennet (RRB) e Log- Normal (LN) (Gomide, 1983).

As equações para esses modelos estão apresentadas na Tabela 1, onde X é a fração em massa das partículas com diâmetro menor do que D.

Na Tabela 2, temos as expressões para o cálculo do diâmetro médio de Sauter.

Tabela 1. Modelos utilizados em distribuição granulométricas

Modelo	Equações	Eq. Modificada
GGS	$X = \left(\frac{D}{k} \right)^m$	$\ln X = -m \ln k + m \ln D$
RRB	$X = 1 - e^{-\left(\frac{D}{D'} \right)^n}$	$\ln \left(\ln \left(\frac{1}{1-X} \right) \right) = -n \cdot \ln D' + n \cdot \ln D$
LN	$X = (1 + \operatorname{erf}(z)) / 2$ $z = \ln(D / D_{50}) / (\sqrt{2} \cdot \ln \sigma)$ $\operatorname{erf}(z) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^z e^{-z'^2} dz'$	$t = \sqrt{\ln \left(\frac{1}{X^2} \right)} \quad 0 \leq X \leq 0,5$ $t = \sqrt{\ln \left(\frac{1}{(1-X)^2} \right)} \quad 0,5 \leq X \leq 1,0$ $z = t - \frac{a+bt+ct^2}{1+dt+et^2+ft^3}$

Neste trabalho, utilizou-se a microscopia para avaliar a distribuição de tamanho de partículas da polpa de acerola, antes e após o tratamento enzimático. Os estudos reológicos das amostras foram realizados no reômetro DV-III da Brookfield.

Tabela 2. Expressões para o cálculo do diâmetro médio de Sauter

Modelo	Diâmetro Sauter (D_S)
GGS	$(m-1)k / m, m > 1$
RRB	$D^1 / \Gamma \left(1 - \frac{1}{n} \right), n > 1$
LN	$D_{50} \cdot \exp \left(-\frac{1}{2} \cdot \ln^2 \sigma \right)$

Material e métodos

Matéria prima

A matéria-prima utilizada neste trabalho foi acerola madura, colhida no mês de dezembro do ano 2000, nos pomares da fazenda experimental da Universidade Estadual de Maringá (UEM), localizada na região de Maringá, Estado do Paraná.

Após a colheita, as acerolas foram despolidas em despoldadeira Bonina, modelo 0,25 df, da Itametal, sendo retiradas as cascas e as sementes. A polpa integral obtida foi então acondicionada em embalagens plásticas de 500g e armazenadas em um freezer à temperatura de -10°C.

Tratamento enzimático

Os tratamentos enzimáticos foram realizados em diferentes temperaturas, concentrações de enzimas e tempos de reação.

Foram testadas duas preparações enzimáticas comerciais: Citrozym Ultra L (5000 FDU/mL de despectinização de suco de maçã a 55°C, FDU - Ferment Depectinization Units, densidade de 1,175), nas temperaturas de 35 e 45°C, e a Pectinex Ultra SP-L (atividade padrão 26000 PG/ml, PG - Poly Galactoronase a pH 3,5, densidade de 1,8), nas temperaturas de 25 e 35°C. As temperaturas utilizadas correspondem à faixa em que ocorre maior atividade pectolítica para as enzimas usadas (Novozymes, 2001).

Em uma primeira etapa, denominada de Etapa 1, as concentrações utilizadas para as enzimas foram de 50, 100 e 150 ppm, com tempos de tratamento de 15, 30, 45, 60, 75 e 90 minutos. Em função dos resultados obtidos nessa etapa, foi realizada uma segunda etapa, denominada de etapa 2.

Na etapa 2, foram testadas novamente as duas enzimas, a Citrozym Ultra L, nas temperaturas de 35 e 45°C, e a Pectinex Ultra SP-L, na temperatura de 35°C em novas amostras, variando-se suas concentrações em 80 e 120 ppm, nos tempos de 60, 75 e 90 minutos. Nessa etapa, foram feitas réplicas dos tratamentos.

Adotou-se como amostra controle uma amostra sem a adição das enzimas, no tempo de 0 minuto,

para as duas etapas realizadas.

Após atingidos os tempos de tratamento, todas as amostras foram desativadas, submetendo-as à temperatura de 90°C por 10 minutos. A desativação se faz necessária para que a reação enzimática seja paralisada.

Na Tabela 3, apresenta-se o delineamento fatorial, para se obter o número de experimentos que foram realizados.

Tabela 3. Delineamento experimental, utilizando fatorial simples (Etapa 1)

Fatores	Níveis
Enzimas	2
Temperatura	2
Concentração	3
Tempo de tratamento	7
Total de ensaios	84

Foram realizadas análises reológicas e físico-químicas no controle zero para todas as amostras tratadas enzimaticamente. As análises e respectivas etapas em que foram realizadas estão apresentadas na Tabela 4. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

Para as análises de viscosidade, pectina, turbidez, cor, absorbância e teor de polpa, foram calculadas percentagens de redução dos valores obtidos para cada tempo de tratamento, em relação ao valor médio (relativo a dez análises) encontrado para o controle zero. O cálculo da redução percentual (% R) seguiu a equação (4):

$$\% R = ((VACZ - VAT) / VACZ) \cdot 100 \quad (4)$$

Onde VACZ é o valor da análise para o controle zero, e VAT, o valor da análise obtida para a amostra tratada no tempo X (15, 30, 45, 60, 75 ou 90 min).

Tabela 4. Análises físicas e químicas e etapas do processo em que foram realizadas

Análises	Etapas	Referência
PH Brix (Sólidos Solúveis)	1	Instituto Adolfo Lutz (1985)
Polpa Suspensa (Teor de Polpa)	1 e 2	A.O.A.C (1984)
Acidez Total Titulável	1	
Turbidez	1 e 2	
Cor	1	
Absorbância	1	
Sólidos Totais	1	
Açúcares Redutores (Método DNS)	1	Zanin e Moraes (1984)
Carboidratos Totais (CHT)	1	Chaplin e Kennedy (1987)
Pectina	1 e 2	Alvarez et al. (1998)
Viscosidade	1 e 2	Reômetro DV-III da Brookfield (25°C)

Análise microscópica

Para se realizar a análise microscópica, pequenas gotas das amostras foram colocadas em lâminas, e imediatamente realizou-se a leitura.

As distribuições de tamanhos das partículas do suco foram obtidas por meio de microscópio eletrônico Olympus DX-40, acoplado a um computador com o *software Image Pró-Plus 4.1* da Média Sibertécnicos, o qual fornece uma listagem com o tamanho de cada partícula, a partir da qual foram contadas as partículas por faixa de tamanho, e construídos os respectivos histogramas.

Para aplicações computacionais, é interessante obter equações que representem as distribuições granulométricas. Dentre os modelos a dois parâmetros, foram testados os três modelos apresentados na Tabela 1: Gates-Gaudin-Schumann (GGS), Rosin-Rammler-Bennet (RRB) e Log-Normal (LN).

Para os modelos, foram calculados os coeficientes de correlação e os seus respectivos parâmetros, sendo que para o modelo Log-Normal calculou-se **D₅₀** (diâmetro de corte), **S** ($D_{84,1}/D_{50}$) e **D_s** (diâmetro de Sauter).

Resultados e discussão

Reologia da polpa integral de acerola

A Figura 1 apresenta os resultados da viscosidade aparente (η_A), em função da taxa de deformação ($\dot{\gamma}$), para a polpa integral de acerola com 30% (v/v). Os resultados obtidos indicam que ocorreu uma diminuição da viscosidade aparente com o aumento da taxa de deformação. Esse comportamento é característico de um fluido pseudoplástico que segue o modelo de Power Law (equação $\eta_A = K \cdot \dot{\gamma}^n$). Os parâmetros obtidos por esse modelo foram $K = 22,02 \text{ cP s}^{-1}$ e $n = 0,262$ e uma viscosidade aparente $\eta_A = 1,96 \text{ cP}$, a partir da taxa de deformação igual a 20 s^{-1} .

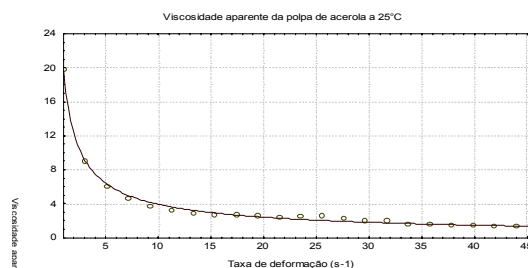


Figura 1. Viscosidade aparente da polpa integral de acerola

O comportamento de fluido pseudoplástico é verificado devido à existência de um alto teor de polpa e está de acordo com os resultados

apresentados por Trifiró *et al.* (1987), em Queiroz (1998), Matsuura (1994), Matta (1999) e por Damasceno (2001).

O maior valor de viscosidade aparente encontrado neste trabalho, (1,96 cp), pode ser justificado por ter-se trabalhado com um valor de taxa de deformação bem abaixo do utilizado por Matta (1999), que obteve na temperatura de 20°C e taxa de deformação de 245,3 s⁻¹ um valor médio da viscosidade aparente de 1,04 cP.

Fernandes (1999) e Damasceno (2001), trabalhando com um menor teor de polpa (2% v/v), obtiveram valores de viscosidade aparente de 1,23 cP (20°C) e 1,68 cP(25°C) a partir de uma taxa de deformação de 50 s⁻¹, respectivamente. Os valores obtidos por esses autores encontram-se abaixo do obtido neste trabalho. Esse comportamento pode ser justificado em função do valor do teor de polpa utilizado, em torno de 30%, enquanto os autores citados trabalharam com 2% de teor de polpa.

Influência do tratamento enzimático na Viscosidade Aparente

A influência do tratamento enzimático na viscosidade aparente do suco de acerola foi calculada por meio da percentagem de redução do valor obtido para cada tempo de tratamento, em relação ao valor encontrado para o controle zero, sempre na taxa de deformação 20 s⁻¹. O cálculo da redução percentual seguiu a equação (4).

O tratamento enzimático afetou a viscosidade da polpa integral da acerola. A ação enzimática modificou a estrutura da polpa, ocasionando redução do tamanho das macromoléculas, alterando com isso o comportamento reológico da polpa ao longo do tempo de tratamento.

As curvas de comportamento reológico da polpa integral (não mostradas no texto), após as diferentes condições de tratamento enzimático, apresentam sempre a mesma tendência de comportamento de fluido pseudoplástico, o que pode ser verificado pelos valores apresentados nos índices de comportamento de fluxo menores que 1, para todas as condições de tratamento e amostras analisadas.

Para os cálculos das percentagens de redução da viscosidade, foi considerada a viscosidade aparente constante, a partir da taxa de deformação (γ) 20 s⁻¹ para todas as condições estudadas.

Na Tabela 5, estão apresentados os valores das reduções de viscosidade aparente, para as amostras da etapa 1, ou seja, tratadas com a enzima Pectinex Ultra SP-L, submetidas às temperaturas de 25 e 35°C.

Observou-se que a polpa integral, tratada a 25°C, teve uma redução de viscosidade de 44,6%, utilizando-se 100 ppm da enzima, no tempo de tratamento de 30min. Nessas mesmas condições de temperatura e concentração, obteve-se uma redução de 46,6%, no tempo de tratamento de 60min.

Tabela 5. Redução percentual da viscosidade aparente da polpa integral de acerola tratada com Pectinex Ultra SP-L

Tempo (min)	Pectinex Ultra SP-L Temperatura 25°C			Pectinex Ultra SP-L Temperatura 35°C		
	50 ppm	100 ppm	150 ppm	50 ppm	100 ppm	150 ppm
15	3,0%	31,2%	21,9%	4,6%	27,8%	8,8%
30	2,8%	44,6%	21,3%	12,1%	48,3%	16,5%
45	4,7%	33,5%	24,9%	13,9%	40,9%	25,3%
60	12,6%	46,6%	34,0%	30,3%	52,4%	40,9%
75	23,5%	33,6%	21,2%	34,3%	41,2%	24,7%
90	25,1%	34,7%	34,0%	33,3%	47,1%	25,7%

Na temperatura de 35°C e concentração de 100 ppm, observou-se uma redução da viscosidade de 48,3%, no tempo de tratamento de 30min. Aumentando-se o tempo de tratamento para 60min, obteve-se uma redução máxima de 52,4%, sendo que para os tempos de tratamento que se encontram acima de 60min a redução manteve-se em torno de 45%.

Na Tabela 6, são apresentados os valores das reduções de viscosidade aparente, para as amostras da etapa 1, ou seja, tratadas com a enzima Citrozym Ultra L, submetidas às temperaturas de 35 e 45°C.

O aumento da temperatura de tratamento de 35 para 45°C representou um aumento na redução da viscosidade de 49,3 para 67,7%, após 60min de tratamento com 100 ppm de enzima.

Na temperatura de 35°C, observou-se uma maior redução da viscosidade quando as amostras foram tratadas com 100 ppm. Obteve-se, para as amostras tratadas nessa temperatura e concentração, uma redução percentual média da viscosidade em torno de 51,4% ao longo de todos os tempos de tratamento.

Tabela 6. Redução percentual da viscosidade aparente da polpa integral de acerola tratada com Citrozym Ultra L

Tempo (min)	Citrozym Ultra L Temperatura 35°C			Citrozym Ultra L Temperatura 45°C		
	50 ppm	100 ppm	150 ppm	50 ppm	100 ppm	150 ppm
15	29,0%	51,3%	21,7%	47,2%	60,6%	26,7%
30	39,5%	50,3%	20,1%	46,5%	58,6%	26,5%
45	19,9%	50,6%	32,1%	49,6%	64,0%	41,3%
60	29,1%	49,3%	37,9%	47,7%	67,7%	39,6%
75	36,5%	48,1%	23,4%	47,8%	57,7%	39,2%
90	32,2%	58,8%	41,6%	49,8%	58,0%	31,8%

Barros (2002) determinou a redução percentual da viscosidade do suco de acerola com 2% de teor de polpa, tratado com a enzima Citrozym Ultra L,

temperatura de 30°C, tempo de tratamento de 60min e concentrações de 10, 20 e 30 ppm, encontrando um valor médio de 27% de redução para a viscosidade. No presente trabalho, o teor de polpa médio das amostras não tratadas foi de 30%, sendo obtida uma redução de 29% para a polpa tratada a 35°C com Citrozym Ultra L, no tempo de 60min. Observou-se que, com o aumento da temperatura de 30 para 35°C e da concentração de 30 para 50 ppm, mesmo havendo uma maior quantidade de teor de polpa inicialmente em nossas amostras, obteve-se um ligeiro acréscimo na redução da viscosidade de 27% para 29%.

Matta (1999) mediu a redução de viscosidade para a polpa integral de acerola com aproximadamente 34% de teor de polpa, após tratamento enzimático com as enzimas Pectinex Ultra SP-L (0,01% e 0,02%(v/v)) e Citrozym LS (0,01% e 0,02%(v/v)), na temperatura de 35°C, e afirmou que a viscosidade diminui com o tempo de tratamento e com a concentração das enzimas. Utilizando uma concentração de 0,01% (v/v) da enzima Pectinex Ultra SP-L e tempo de tratamento de 60min, a redução encontrada foi de 80%.

Neste estudo, o valor encontrado nessas condições foi em torno de 53% de redução, estando, portanto, abaixo do valor determinado por Matta (1999).

Observou-se, neste estudo, que o tratamento com a Citrozym Ultra L, na concentração de 100 ppm, temperatura de 45°C e tempo de tratamento de 60min, causou uma redução em torno de 68%.

Na Tabela 7, estão apresentados os valores das reduções de viscosidade aparente, para as amostras da etapa 2, ou seja, tratadas com as enzimas Pectinex Ultra SP-L e a Citrozym Ultra, nas temperaturas de 35 e 45°C.

Tabela 7. Redução percentual da viscosidade aparente da polpa integral de acerola tratada com Pectinex Ultra SP-L e Citrozym Ultra L

Tempo (min)	Pectinex Ultra SP-L Temperatura 35°C		Citrozym Ultra L Temperatura 45°C	
	80 ppm	120 ppm	80 ppm	120 ppm
60	33,5%	46,7%	54,9%	55,6%
75	30,2%	52,4%	57,6%	58,5%
90	37,3%	49,8%	54,1%	60,2%

Para a polpa integral tratada com a Pectinex Ultra SP-L, verificou-se uma maior redução percentual da viscosidade aparente, para os três tempos de tratamento, quando utilizou-se 120 ppm da enzima. Já para a Citrozym Ultra L, os resultados obtidos para as duas concentrações foram semelhantes, com

uma maior redução da viscosidade para a concentração de 120 ppm.

Na Tabela 8, estão apresentados os melhores resultados para os percentuais de redução da viscosidade aparente, para as amostras tratadas com as enzimas Pectinex Ultra SP-L e Citrozym Ultra L.

Tabela 8. Melhores resultados de redução percentual da viscosidade aparente da polpa integral de acerola - etapas 1 e 2

Tempo (min)	Pectinex Ultra SP-L Temperatura 35°C		Citrozym Ultra L Temperatura 45°C -	
	100 ppm	120 ppm	100 ppm	120 ppm
60	52,4%	46,7%	67,7%	55,6%
75	41,2%	52,4%	57,7%	58,5%
90	47,1%	49,8%	58,0%	60,2%

Observando-se os valores da Tabela 8, a melhor percentagem de redução da viscosidade aparente é observada para a condição experimental de tratamento com a enzima Citrozym Ultra L, na temperatura de 45°C, concentração de 100 ppm e tempo de tratamento de 60min.

Na Tabela 9, estão apresentados os melhores resultados para os valores percentuais de redução da polpa integral tratada com a Citrozym Ultra L (CT), nas temperaturas de 45 e 35°C, concentrações de 100, 120 e 150 ppm e tempos de tratamento de 60, 75 e 90min e tratada com a Pectinex Ultra SP-L, na temperatura de 35°C, concentrações de 100, 120 e 150 ppm, e tempos de tratamento de 60, 75 e 90min.

Tabela 9. Melhores resultados de redução percentual de viscosidade aparente

Citrozym Ultra L		Pectinex Ultra SP-L (PT)	
Condição	Viscosidade Aparente (%)	Condição	Viscosidade Aparente (%)
CT4510060	67,7	PT3510060	52,4
CT4510075	57,7	PT3510075	41,2
CT4510090	58,0	PT3510090	47,1
CT4512060	55,6	PT3512060	46,7
CT4512075	58,5	PT3512075	52,4
CT4512090	60,2	PT3512090	49,8
CT4515060	39,6	PT3515060	39,6
CT4515075	39,2	PT3515075	23,1
CT4515090	31,8	PT3515090	24,2
CT3510060	49,3		
CT3510075	48,1		

Melhores condições de tratamento enzimático

Foram avaliadas as influências dos parâmetros físico-químicos, apresentados na Tabela 4, à polpa submetida aos vários tratamentos enzimáticos. Não foram observadas variações importantes no pH, Brix, acidez total titulável, cor, absorbância, sólidos totais, açúcares redutores e carboidratos totais. Os parâmetros que apresentaram variações, quando submetidos ao tratamento enzimático, foram:

concentração de pectina, turbidez, viscosidade e teor de polpa.

Para a determinação da melhor condição de tratamento, atribuíram-se diferentes pesos a cada uma das quatro propriedades (concentração de pectina, turbidez, viscosidade e teor de polpa). Os pesos utilizados dependem da utilização do produto, posteriormente ao tratamento enzimático.

Quando o interesse for ultrafiltrar o suco ou a polpa tratada, desejar-se-á obter produtos com maiores reduções dessas propriedades. Pela ordem de importância considerada neste trabalho, temos, em primeiro lugar, a redução da viscosidade, e, na sequência, pectina, teor de polpa e, por último, a turbidez. Pela equação (5), foram calculados o IDI (índice de importância) em relação a cada condição de tratamento utilizada. Na Tabela 10, estão apresentados os melhores resultados para os valores percentuais de redução da polpa integral tratada com a Citrozym Ultra L (CT), nas temperaturas de 45 e 35°C, concentrações de 100, 120 e 150 ppm e tempos de tratamento de 60, 75 e 90min. Exemplificando temos que CT4510060 significa aplicar a condição de tratamento em que utiliza-se a enzima Citrozym Ultra L, na temperatura de tratamento de 45°C, concentração de 100 ppm, por um tempo de tratamento de 60min.

$$\text{IDI} = \frac{[(\text{Viscosidade} (\%) \cdot 4 + \text{Pectina} (\%) \cdot 3 + \text{Teor de polpa} (\%) \cdot 2 + \text{Turbidez})] / 10}{5} \quad (5)$$

Analisando-se os resultados de redução percentual obtidos para os quatro principais parâmetros avaliados, mostrados na Tabela 10, temos que a melhor condição de tratamento para a Citrozym Ultra L foi a representada pelo tratamento em que a enzima foi utilizada na temperatura de 45°C, concentração de 100 ppm e tempo de tratamento de 60min. Para essa condição, encontramos o maior valor de IDI. Nessa condição, o tratamento apresentou a maior redução para a viscosidade (67,7%), a maior para a pectina (68,2%), a terceira melhor redução do teor de polpa (19%) e uma redução menos importante para a turbidez (30%).

Tabela 10. Melhores resultados de redução percentual para a polpa de acerola tratada com Citrozym Ultra L

Condição T ^a (°C) C (ppm) t (min)	Visc (%)	Pect (%)	Turb (%)	TP (%)	IDI
4510060	67,7	68,2	30	19	54,3
4510075	57,7	39,3	32	23	42,7
4510090	58,0	62,1	28	23	49,2
4512060	55,6	59,3	54	14	48,2
4512075	58,5	59,7	58	14	49,9
4512090	60,2	60,6	59	18	51,8
4515060	39,6	66,1	52	18	44,5
4515075	39,2	67,6	56	18	45,2
4515090	31,8	70,7	57	18	43,2
3510060	49,3	41,0	58	14	40,6
3510075	48,1	42,2	57	18	41,2
3510090	58,8	47,4	57	21	47,6

Na Tabela 11 estão apresentados os melhores resultados para os percentuais de redução para a polpa integral tratada com a Pectinex Ultra SP-L (PT), na temperatura de 35°C, concentrações de 100, 120 e 150 ppm, e tempos de tratamento de 60, 75 e 90min.

Analisando-se os resultados de redução percentual obtidos para os quatro principais parâmetros avaliados, temos que a melhor condição de tratamento para a Pectinex Ultra SP-L foi a representada pelo tratamento em que a enzima foi utilizada na temperatura de 35°C, concentração de 120 ppm e tempo de tratamento de 75min. Nessa condição, o tratamento apresentou a maior redução para a viscosidade (52,4%), a maior para a pectina (32,4%), a terceira melhor redução do teor de polpa (16%) e uma redução alta para a turbidez (57%).

Os resultados obtidos podem ser explicados em função das diferentes atividades apresentadas pelas enzimas, sendo que a Pectinex Ultra SP-L possui atividade pectolítica e hemicelulolítica, enquanto a Citrozym Ultra L contém atividade pectolítica, hemicelulolítica e celulolítica. Portanto, a Citrozym Ultra L possui um tipo a mais de atividade enzimática, a celulolítica (quebra da celulose). A polpa de acerola apresenta 1,86% de fibras, segundo Oliveira (1997), as fibras, compostas por celuloses sofrem a ação da enzima, hidrolizando-as, permitindo que melhores reduções sejam encontradas, principalmente na viscosidade, para as amostras que foram tratadas com essa enzima.

Tabela 11. Melhores resultados de redução percentual para a polpa de acerola tratada com Pectinex Ultra SP-L

Condição T _a (°C) C (ppm) t (min)	Visc (%)	Pect (%)	Turb (%)	TP (%)	IDI
3510060	52,4	10,7	49	14	31,9
3510075	41,2	8,1	46	17	26,9
3510090	47,1	23,1	44	21	34,4
3512060	46,7	21,2	62	13	33,8
3512075	52,4	32,4	57	16	39,6
3512090	49,8	23,5	56	16	35,7
3515060	39,6	22,9	30	13	28,3
3515075	23,1	7,0	35	13	17,4
3515090	24,2	26,4	48	16	25,6

Assim, tem-se que o tratamento enzimático reduziu o teor de polpa, a viscosidade, e diminuiu a turbidez, melhorando as características da polpa, facilitando a clarificação por processo de filtração por membrana.

Caracterização microscópica

A caracterização microscópica foi realizada para as amostras obtidas das melhores condições determinadas no item anterior

O modelo que melhor ajustou os dados das análises microscópicas foi o Log- Normal. Os parâmetros determinados para as amostras tratadas com a Citrozym Ultra L e Pectinex Ultra SP-L estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12. Parâmetros do modelo Log-Normal para amostra controle, tratada com a enzima Citrozym Ultra L por 60min e Pectinex Ultra SP-L por 75min

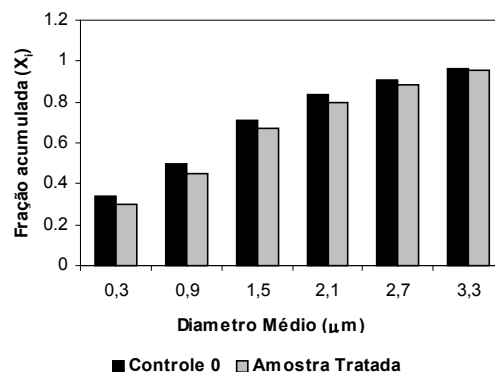
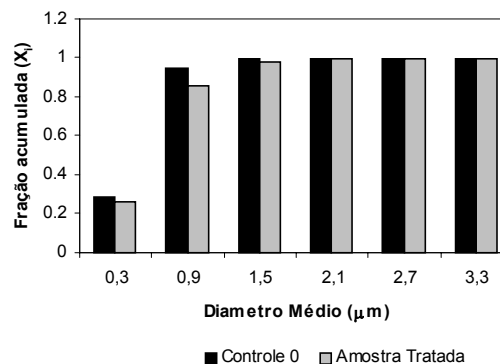
Citrozym Ultra L	D _{0,5} (μm)	R ²	s	D ₅ (μm)
Controle	0,386	0,973	1,832	0,321
60min	0,447	0,998	1,915	0,362
Pectinex Ultra SP-L	D _{0,5} (μm)	R ²	s	D ₅ (μm)
Controle	0,685	0,906	2,771	0,408
75min	0,769	0,9047	2,795	0,453

Foram calculados os desvios percentuais encontrados entre o controle e a amostra tratada, obtendo-se para a Citrozym Ultra - L o valor de 11,22%, enquanto para a Pectinex Ultra SP-L o valor encontrado foi de 10,10%.

Os resultados da distribuição de tamanho de partículas foram avaliados, fazendo-se gráficos do diâmetro médio das partículas, em função da fração acumulada, e gráficos do diâmetro médio das partículas, em função da fração retida.

No gráfico da Figura 2, podemos observar a variação da fração acumulada de partículas da amostra tratada com a Pectinex Ultra SP-L, em relação à amostra controle, sendo que em todos os diâmetros médios avaliados a amostra controle apresentou uma fração acumulada ligeiramente superior à amostra

tratada. No gráfico da Figura 3, podemos observar o mesmo comportamento até o diâmetro médio de 1,5 μm, sendo que, para os diâmetros maiores, os valores de fração acumulada da amostra tratada e o controle praticamente se igualam.

**Figura 2.** Distribuição de tamanho de partículas que compõem a polpa integral de acerola, antes e depois do tratamento com a enzima Pectinex Ultra SP-L**Figura 3.** Distribuição de tamanho de partículas que compõem a polpa integral de acerola, antes e depois do tratamento com a enzima Citrozym Ultra L

Nos gráficos das Figuras 4 e 5, estão apresentados os comportamentos das amostras tratadas em função do controle zero. Avaliou-se nesses gráficos a fração retida das partículas em função do diâmetro médio das partículas.

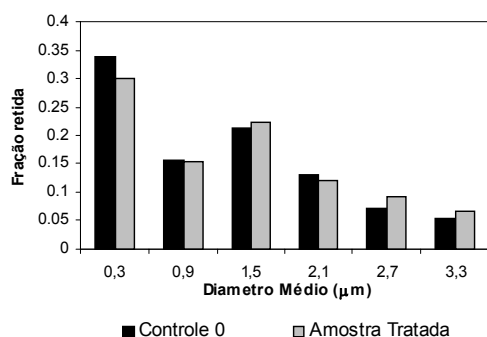


Figura 4. Distribuição de tamanho de partículas na forma de fração retida das partículas da polpa integral de acerola, antes e depois do tratamento com a enzima Pectinex Ultra

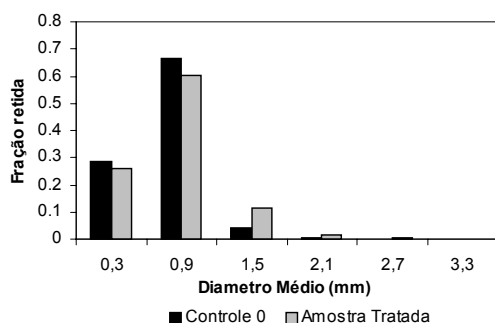


Figura 5. Distribuição de tamanho de partículas na forma de fração retida das partículas da polpa integral de acerola, antes e depois do tratamento com a enzima Citrozym Ultra L

Barros (2002) observou que o diâmetro médio das partículas do suco de acerola integral, antes de a amostra ser tratada, possuía um valor de $0,74 \mu\text{m}$, e que após o tratamento enzimático possuía um valor de $0,94 \mu\text{m}$, ou seja, houve um aumento do diâmetro médio das partículas.

No gráfico da Figura 4, está demonstrada a variação da fração retida das partículas das amostras tratadas com a Pectinex Ultra SP-L; enquanto no gráfico da Figura 5, temos a variação da fração retida para as amostras tratadas com a Citrozym Ultra L.

Conclusão

A polpa integral, com teor médio de polpa (30%), apresentou comportamento de fluido pseudoplástico e seguiu o modelo de Power Law.

A melhor percentagem de redução da viscosidade aparente, obtida da polpa de acerola quando tratada com Citrozym Ultra L, na temperatura de 45°C , concentração de 100 ppm e tempo de tratamento de 60min foi de 67,7%. Essa mesma polpa quando tratada com Pectinex Ultra SP-L, na temperatura de

35°C , nas concentrações de 100 e 120 ppm, nos tempos de tratamento de 60 e 75min, apresentou percentagem de redução da viscosidade aparente de 52,4%.

Obteve-se como melhores resultados, no tratamento enzimático realizado com duas enzimas comerciais no suco integral de acerola, quando as amostras foram tratadas com as enzimas, nas seguintes condições: Citrozym Ultra L e Pectinex Ultra SP-L, nas concentrações de 100 e 120 ppm, temperaturas de 45 e 35°C e tempos de tratamento 60 e 75 minutos, respectivamente.

Observou-se que o tratamento enzimático aumentou o tamanho das partículas insolúveis, devido à redução da repulsão eletrostática entre as nuvens de partículas, fazendo-as se agruparem. O maior aumento ocorreu para a amostra tratada com a enzima Citrozym Ultra - L, o que coincidiu com a condição que forneceu os melhores resultados para a clarificação. O tratamento da polpa de acerola com a Citrozym Ultra L, temperatura de 45°C , concentração de 100 ppm, tempo de tratamento de 60min, apresentou diâmetro de Sauter ($D_s = 0,3617 \mu\text{m}$) maior do que para a amostra controle. Para as amostras tratadas com a Pectinex Ultra SP-L, temperatura de 35°C , concentração de 120 ppm, tempo de tratamento de 75min, o diâmetro de Sauter ($D_s = 0,4534 \mu\text{m}$) foi maior do que a amostra não tratada. Portanto, podemos concluir que as características microscópicas da polpa sofreram alterações com o tratamento enzimático, sendo evidente uma tendência em aumentar o tamanho do diâmetro médio das partículas.

Referências

- A.O. A. C. (Association of Official Analytical Chemists). In: WILLIAMS, S. (Ed.). *Official methods of analysis*; 14. ed. Arlington: AOAC, 1984.
- ALVAREZ, S. *et al.* Influence of depectination on apple juices ultrafiltration. *Colloids Surf.* Amsterdam, v.138, p. 377-382, 1998.
- BARROS, S.T.D. *Clarificação dos sucos de acerola e abacaxi por ultrafiltração: Modelagem e Simulação do Fluxo de Permeado e Determinação dos Mecanismos de Fouling*, 2002. Tese (Doutorado) - DTP/Unicamp, Campinas, 2002.
- BHAT, M.K. Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnol. Adv.*, New York, v.18, p. 355-383, 2000.
- CLAPLIN M.F.; KENNEDY J.F. *Carbohydrate analysis*, IRL press, 1987.
- DEGANUTTI, F. *Classificação Granulométrica de Sólidos Particulados*. Maringá: Relatório de Pós-graduação, PGEQ/UEM, 1999.

- DAMASCENO, J.W. *Concentração Do Suco de Acerola por Processo da Osmose Inversa Combinada com a Ultrafiltração*, 2001. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, 2001.
- FERNANDES, L.M. *Clarificação do suco de acerola por processos com membranas*, 1999. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 1999.
- GOMIDE, R. Operações com sistemas Sólidos Granulares. In *Operações Unitárias*, v. 1. São Paulo: Edição do Autor, 1983.
- KASHYAP D.R. et al. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Biorsource Technology*, Elsevier Science Ltda, v.77, p. 215-227, 2001.
- MATSUURA F.C.A. *Processamento e caracterização de suco integral e concentrado congelado de acerola*. 1994. Dissertação (Mestrado) - FEA/Unicamp, Campinas, 1994.
- MATTA, V.M. *Estudo da utilização dos processos de separação por membrana para obtenção de suco de acerola clarificado e concentrado*. 1999. Tese (Doutorado) - FEA/Unicamp, Campinas, 1999.
- NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ, *Métodos químicos e físicos para análises de alimentos*, v. 1, 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985.
- NOVOZYMES *Manual, Product Sheet, Fruit & Vegetable-07212-02*. Araucária: Novozymes Latin America Limited. 2001.
- OLIVEIRA, R. P. S. *Determinação de propriedades físicas e de transporte de suco de acerola*. 1997. Dissertação (Mestrado) - FEA/Unicamp, Campinas, 1997.
- PETRUS, J.C.C. *Preparação, modificação e caracterização de membrana assimétrica para clarificação de suco de frutas*. 1997. Tese (Doutorado) - FEA/Unicamp, Campinas, 1997.
- QUEIROZ, A.J.M. *Estudo do comportamento reológico dos sucos de abacaxi e manga*. 1998. Tese (Doutorado) - FEA/Universidade de Campinas, Campinas, 1998.
- ZANIN, G.M.; MORAES, F.F. *Tecnologia de imobilização de células e enzimas aplicada à produção de álcool de biomassas* - Maringá: Relatório de Pesquisa/UEM, p. 315-321, 1987.

Received on September 20, 2002.

Accepted on November 18, 2002.