

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO TECNOLÓGICO
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ANA CARLA ALVES PELAIS

**ESTUDO DOS FATORES QUE INFLUENCIAM NA
ESTABILIDADE DA EMULSÃO DO AÇAÍ**

BELÉM

2007



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO TECNOLÓGICO
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ANA CARLA ALVES PELAIS

**ESTUDO DOS FATORES QUE INFLUENCIAM A
ESTABILIDADE DA EMULSÃO DO AÇAÍ**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Hervé Rogez

BELÉM

2007



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO TECNOLÓGICO
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ANA CARLA ALVES PELAIS

**ESTUDO DOS FATORES QUE INFLUENCIAM A ESTABILIDADE DA
EMULSÃO DO AÇAÍ**

BANCA EXAMINADORA :

Prof. Dr. Hervé Rogez
Orientador

Prof. Dr. Rosinelson da Silva Pena
Membro

Prof^ª. Dr^ª. Luiza Helena Meller da Silva
Membro

Prof^ª. Dr^ª. Cristina Maria Araújo Dib Taxi
Membro

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado saúde e força em todos os momentos de minha vida.

Ao professor Hervé Rogez, meu orientador, a oportunidade de trabalhar e aprender com ele durante todos esses anos desde a iniciação científica. Recebi exemplos de profissionalismo, competência, disciplina, dedicação e ética. Qualidades que penso serem necessárias para a formação de bons pesquisadores.

Aos meus amigos pela amizade e apoio e por estarem sempre presentes, nos momentos felizes e nos incertos.

Em especial agradeço a Darly Pompeu pela amizade sem dúvida, mas principalmente pela inegável disposição e paciência em esclarecer dúvidas sobre a execução das análises estatísticas.

A Evaldo Silva pela amizade, sugestões e críticas pertinentes ao trabalho.

A Fábio Gomes e Douglas Xavier que sempre me auxiliaram em algumas manipulações; no laboratório ou na coleta dos frutos nas feiras da cidade.

A todos os colegas e amigos da usina de alimentos que me ajudaram e estão sempre dispostos a ajudar: Jesus Souza, Karina Lins, Alonso Rodrigues, Fabrício, Anne Suellen, Camila Bastos, Evelyn Damasceno, Lorena Maciel, Fagner Aguiar, Leandro Marinho, Carol, Sthefano, Braz, Priscila, Marília, Rogério, Jonas, Regiane, Socorro e Paula.

Aos membros da Banca de Qualificação Prof. Dr. Rosinelson da Silva Pena e Prof^a. Dr^a. Luiza Helena Meller da Silva pelas relevantes contribuições que permitiram melhorar a qualidade deste trabalho.

Com o propósito de não esquecer ninguém, agradeço de modo geral a boa convivência que tive com todas as pessoas do Laboratório pelo agradável e estimulante convívio.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos funcionários e docentes do Laboratório de Engenharia Química e de Alimentos.

RESUMO

A bebida açai obtida dos frutos do açazeiro (*Euterpe oleracea*) é um alimento de grande aceitação entre as classes populares paraenses e vem conquistando mercados nacional e internacional devido suas propriedades calóricas e nutricionais. Durante a preparação desta bebida, amolecem-se os frutos em água morna antes de despulpá-los com adição de água, formando uma emulsão estável. Os fatores que poderiam influenciar a estabilidade desta emulsão tais como: temperatura de amolecimento dos frutos, concentração de cloreto de cálcio na bebida, tratamento térmico, pH e condições experimentais de separação dos lipídios por centrifugação foram estudadas neste trabalho, e dessa forma, a possibilidade tecnológica de retirar parte dos lipídios e oferecer uma bebida do tipo *light*. A estabilidade da emulsão foi avaliada em função do diâmetro da gotícula de lipídio e do percentual de matéria seca encontrada no sobrenadante após centrifugação. A temperatura de amolecimento dos frutos não influenciou ($p > 0,05$) na estabilidade da emulsão, tanto no amolecimento padrão ($45^{\circ}\text{C}/1\text{h}$), quanto no amolecimento com temperatura alternada (0 e 50°C). O tratamento da bebida com cloreto de cálcio (8, 9,7, 13, 18, 28, 58 e 108 mM) e o tratamento térmico aplicado (25, 50, 60, 70, 80 e 90°C) a um tempo fixo de 20 minutos, também não alteraram significativamente os parâmetros de estabilidade usados. Quanto ao pH, as amostras tiveram aumentos significativos no diâmetro em pH 7,5 à temperatura ambiente e também quando sofreram tratamento térmico a partir de 60°C , devido a desnaturação térmica das proteínas. Em relação ao processo de separação dos lipídios por centrifugação, a velocidade e o tempo de rotação foram estudados considerando três procedências de frutos (Abaetetuba, Cumbu e Ilha das Onças). O tempo não apresentou diferença significativa sobre a resposta percentual de lipídios retirados, ao contrário da velocidade, que apresentou efeito quadrático negativo ($p < 0,05$). A procedência também apresentou efeito altamente significativo sobre a resposta. O tempo e a velocidade ótimos para a separação foram de 3000g durante 1 minuto, os quais possibilitam a retirada mínima de 38% de lipídios da emulsão.

ABSTRACT

The drink açai obtained from fruits of the *Euterpe oleracea* is a food of great acceptance among the local popular class and is conquering new consumers in national and international level, who are attracted by its caloric and nutritional properties. During the preparation process of this drink, the fruits soft in water with temperature at 45°C before the pulping the fruits, form a stable emulsion. Factors that may influence the stability of this emulsion, such as temperature of fruits softening, CaCl₂ concentration, thermal treatment of the drink, pH and experimental conditions for the lipid separation by centrifugation, were studied. Thus, the technological possibility of removing part of the lipids and offering an açai drink of type *light*. The stability of the emulsion was evaluated in function of the diameter of the lipid droplets and the percentage of dry matter after centrifugation. The temperature of fruits softening did not influence significantly ($p < 0,05$) the stability of the emulsion, not only in the standard softening (45°C/1h) but also in the softening with alternative temperature (0 and 50°C). The emulsions treatments with calcium chloride (8, 9,7, 13, 18, 28, 58 and 108) and varying the temperature (25, 50, 60, 70, 80 and 90°C) and fixing a time in 20 minutes, did not alter significantly the stability parameters. With respect to the pH, the samples showed significant increases in the droplet diameter at pH 7,5 and ambient temperature (25°C), as well as when it was submitted to thermal treatment at temperatures above 60°C. In relation to the separation process of the lipids by centrifugation, the speed of rotation and time were studied, considering three origins of the fruits (Abaetetuba, Cumbu and Ilha das Onças). The time did not present significant difference on the dry matter, in contrast to the speed that presented a negative quadratic effect ($p < 0,05$). The origin also presented a highly significant effect on the dry matter for the fruits from. The optimum condition of time and speed for the separation was 3000g during 1 minute, which yielded a minimum removal of 38% of lipids from the emulsion and açai type *light* appeared to be reliable.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Microfotografias de emulsões em alimentos. (a) emulsões de óleo em água em molho de salada e (b) água em óleo em óleo de girassol. | 11 |
| Figura 2. Atividade do emulsificante iônico em uma emulsão óleo-em-água. | 13 |
| Figura 3. Esquemas de processos de instabilidade em emulsões óleo-água. | 16 |
| Figura 4. Comportamento eletrostático da proteína em função do pH. | 19 |
| Figura 5. Efeito do cloreto de sódio (a) e do cloreto de cálcio (b) no diâmetro da gotícula de uma emulsão O/A de óleo de soja estabilizada por proteínas. | 20 |
| Figura 6. Influência do tratamento térmico e adição de sal no diâmetro da gotícula de uma emulsão O/A de n- hexadecano. | 22 |
| Figura 7. Despoldamento de frutos de açaí em máquina elétrica. | 27 |
| Figura 8. Separação das fases na emulsão de açaí após a centrifugação. | 28 |
| Figura 9. Microscópio Leica DMR com análise de imagens. | 32 |
| Figura 10. Evolução do % de matéria seca encontrada no sobrenadante após centrifugação em função do tempo e da velocidade de rotação para um açaí de Abaetetuba. | 38 |
| Figura 11. Evolução da matéria seca encontrada no sobrenadante em função da velocidade de rotação. | 40 |
| Figura 12. Diâmetro da gotícula de lipídio em emulsões de açaí contendo diferentes concentrações de CaCl_2 , (a) para frutos que sofreram amolecimento padrão ou (b) amolecimento alternado. | 41 |
| Figura 13. Microfotografias de emulsões de açaí contendo diferentes concentrações de CaCl_2 | 42 |
| Figura 14. Provável interação proteína-fosfolipídio para manutenção da estabilidade da emulsão do açaí. | 43 |
| Figura 15. Percentual de matéria seca encontrada no sobrenadante após centrifugação de emulsões que tiveram amolecimento padrão e adição de diferentes concentrações de cloreto de cálcio. | 44 |
| Figura 16. Visualização por microscópio ótico dos lipídios presentes na parte carnosa dos frutos de açaí (corte transversal; 1 cm = 20 μm) (a) e coalescência de gotículas contendo óleo com cristais (b). | 45 |
| Figura 17. Efeito do tratamento térmico e da concentração de CaCl_2 sobre o diâmetro da gotícula de lipídio de emulsões de açaí. | 46 |
| Figura 18. Efeito do pH e do tratamento térmico sobre o diâmetro da gotícula de lipídio de emulsões de açaí. | 48 |
| Figura 19. Efeito do pH sobre o índice de atividade emulsificante de emulsões de açaí. | 50 |
| Figura 20. Efeito do pH sobre a estabilidade da emulsão de açaí. | 51 |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 9 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 11 |
| 2.1 <i>EMULSÕES EM ALIMENTOS</i> | 11 |
| 2.1.1 Os lipídios..... | 12 |
| 2.1.2 Os emulsificantes | 12 |
| 2.1.3 A camada interfacial | 14 |
| 2.1.4 As interações entre as gotículas na emulsão | 15 |
| 2.2 <i>IN(E)STABILIDADE DA EMULSÃO</i> | 15 |
| 2.2.1 Diâmetro da gotícula da fase dispersa | 17 |
| 2.2.2 Composição da emulsão | 18 |
| 2.2.3 Influência do pH e força iônica..... | 19 |
| 2.2.4 Temperatura | 21 |
| 2.3 <i>O AÇAÍ</i> | 23 |
| 2.3.1 Generalidades | 23 |
| 2.3.2 Composição nutricional do açaí..... | 24 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 26 |
| 3.1 <i>MATÉRIA-PRIMA</i> | 26 |
| 3.2 <i>MÉTODOS</i> | 26 |
| 3.2.1 Preparo da emulsão do açaí..... | 26 |
| 3.2.2 Determinação do teor aproximado de lipídios retirados da emulsão..... | 28 |
| 3.2.3 Otimização do processo de separação da gordura da emulsão de açaí..... | 28 |
| 3.2.4 In(e)stabilidade da emulsão ao stress ambiental | 30 |
| 3.2.5 Determinação da matéria seca..... | 31 |
| 3.2.6 Determinação do diâmetro das gotículas de lipídios | 31 |
| 3.2.7 Determinação dos lipídios | 32 |
| 3.2.8 Determinação de proteínas | 33 |
| 3.2.9 Determinação do índice de atividade emulsificante (IAE) | 33 |
| 3.2.10 Determinação da estabilidade da emulsão (EE)..... | 34 |
| 3.2.11 Análise estatística | 35 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES | 36 |
| 4.1 <i>Influência da velocidade e do tempo de centrifugação</i> | 36 |
| 4.2 <i>Influência da concentração de cálcio</i> | 41 |
| 4.2.1 Diâmetro da gotícula de lipídio..... | 40 |
| 4.2.2 Percentual de matéria seca no sobrenadante..... | 42 |
| 4.3 <i>Influência do tratamento térmico</i> | 46 |
| 4.4 <i>Influência do pH e do tratamento térmico</i> | 48 |
| 4.5 <i>Influência do pH sobre o índice de atividade emulsificante (IAE) e estabilidade da emulsão (EE)</i> | 50 |
| 5. CONCLUSÃO | 53 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 54 |

1. INTRODUÇÃO

Uma emulsão é tradicionalmente definida como a dispersão de gotículas de um líquido em outro, sendo ambos imiscíveis (DICKINSON; STRAINSBY, 1982). Muitos alimentos (leite, sorvete, molhos, fórmulas infantis e cremes) que contêm gordura juntamente com outros ingredientes existem sob a forma de emulsão. O tipo mais freqüente é óleo em água (O/A), quando um óleo está disperso em meio aquoso (ARAÚJO, 2001).

As emulsões são termodinamicamente instáveis, devido o contato desfavorável entre o óleo e a água, além de apresentarem densidades distintas, o que provoca com tempo a desestabilidade da mesma (OGAWA; DECKER; MCCLEMENTS, 2003a). Contudo, é necessário que a mesma permaneça estável a fim de aumentar a vida de prateleira do produto.

As emulsões necessitam de emulsificantes para a formação de sistemas estáveis (SINGH *et al.* 2003). As proteínas, devido sua natureza anfifílica, são excelentes emulsificantes e podem ser usadas para estabilizar emulsões óleo em água. As propriedades físicas e químicas que governam a capacidade emulsificante das proteínas incluem tamanho, forma, distribuição de cargas, hidrofobicidade, flexibilidade, composição de aminoácidos e estrutura (KIM; CORNEC; NARSIMHAN, 2005).

Logo, a desestabilização de emulsões, que possuem proteínas como agente emulsificante, pode ser provocada através de uma variedade de processos físico-químicos os quais incluem a separação mecânica, tratamento térmico, mudanças de pH, entre outros (MCCLEMENTS, 1999). Para uma emulsão em particular, deve-se considerar fatores como sua composição, processo de obtenção e armazenamento.

O açaí é uma emulsão do tipo O/A formada durante o despulpamento dos frutos, após amolecimento obtido por processos tecnológicos adequados. É considerado um alimento de alto valor calórico, com elevado percentual de lipídios (50% da matéria seca), e nutricional, pois é rico em proteínas e minerais, constituindo um dos componentes básicos da dieta local, principalmente das famílias de baixa renda (ROGEZ, 2000).

O elevado teor em nutrientes que o açaí proporciona, conquistou vários adeptos da geração saúde, difundindo seu consumo para várias regiões do país. A venda do produto congelado, para outros Estados brasileiros, vem aumentando significativamente com taxas anuais superiores a 30%, podendo chegar à cerca de 12 mil toneladas (EMBRAPA, 2005). Entretanto, o produto precisa passar por um tratamento térmico a fim de garantir a qualidade microbiológica e desnaturar as enzimas oxidativas. Nesta etapa, muitas vezes, ocorre desestabilização da emulsão de açaí levando ao aparecimento de óleo na superfície da bebida, tornando-a visualmente desagradável para o consumidor (ROGEZ, 2000).

Nesse sentido, devido o açaí apresentar teores de lipídios e proteínas elevados e, com o crescente mercado para esse produto totalmente regional, torna-se indispensável o aprimoramento dos conhecimentos que regem a estabilidade desta emulsão e obtenção de informações que possibilitem a otimização de um processo para elaboração de um novo produto: o açaí *light* (parcialmente desengordurado).

Isso seria possível através de estudos prévios dos parâmetros que influenciam a estabilidade da emulsão do açaí. Assim, este trabalho teve como objetivo, estabelecer fatores como condições ótimas de separação mecânica (centrifugação), pH, concentração de sal (CaCl_2) e tratamento térmico adequados, para provocar a desestabilização da emulsão de açaí a fim de desenvolver um açaí parcialmente desengordurado do tipo *light*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 EMULSÕES EM ALIMENTOS

Uma emulsão pode ser definida como uma mistura formada por dois líquidos imiscíveis, onde um é denominado fase dispersante e o outro fase dispersa (que se encontra na forma de pequenas gotículas) (CHEN; TAO, 2004). Em alimentos, uma emulsão clássica é aquela na qual uma das fases é a água e a outra é um líquido oleoso. Quando o óleo é a fase dispersa, a emulsão é denominada de óleo em água (O/A; caso do leite e do açaí), o contrário, é denominada de água em óleo (A/O; caso da manteiga) (RANJITH, 2000). A Figura 1 mostra a estrutura básica de emulsões O/A e A/O em alimentos.

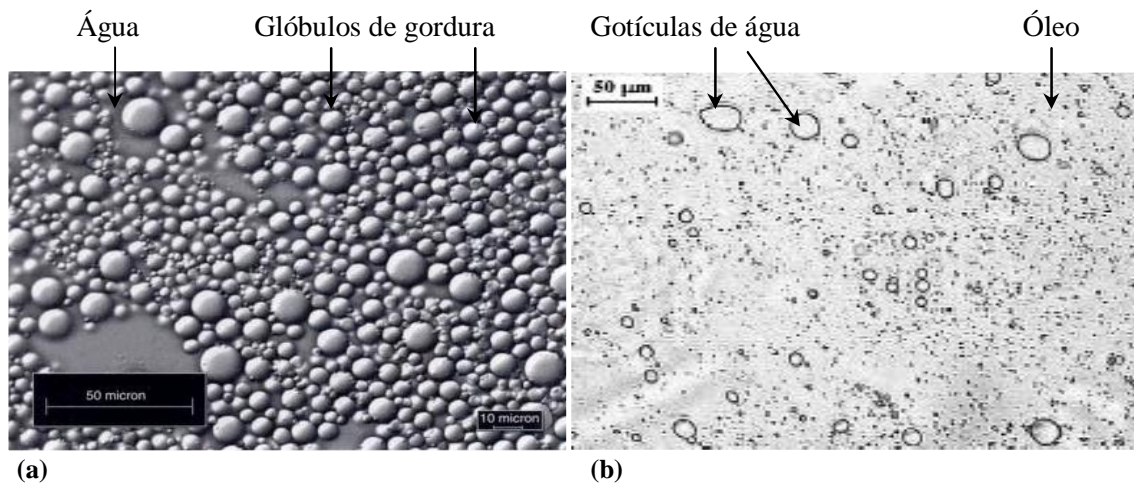


Figura 1. Microfotografias de emulsões em alimentos. (a) emulsões de óleo em água em molho de salada e (b) água em óleo em óleo de girassol. Fontes: (a) MCCLEMENTS, 1999; (b) DEL COLLE; LONGO; FONTES, 2006.

O comportamento das emulsões do tipo óleo em água nos alimentos (como no açaí) é definido em três partes ou fases do sistema: a gordura ou óleo no interior das gotículas da emulsão; o material interfacial entre o material lipídico e a fase aquosa e por último, a fase aquosa. Cada uma destas fases pode ser quimicamente complexa. Os lipídios podem causar mudanças químicas como oxidação ou lipólise. O material interfacial pode conter proteínas ou emulsificantes como monoglicerídios, ésteres ou fosfolipídios, ou misturas destes componentes. Finalmente, a fase aquosa pode conter íons que podem desestabilizar as emulsões, ou macromoléculas como os polissacarídeos, os quais podem exercer efeitos estabilizantes ou não (DALGLEISH, 2006).

2.1.1 Os lipídios

Em emulsões do tipo O/A a gordura ou o óleo usados afeta a estabilidade por seu grau de cristalinidade. No estado líquido, os lipídios têm pouco efeito no comportamento da emulsão, porque agem essencialmente como enchimento. Se os glóbulos se desestabilizarem e a camada interfacial for fraca podem naturalmente coalescer. Por outro lado, podem sofrer oxidação, e esta pode conduzir às reações químicas entre a gordura oxidada e o emulsificante (STEVENSON; HORNE; LEAVER, 1997), que por sua vez pode alterar o valor nutritivo do alimento.

Ao contrário, os lipídios no estado cristalino podem criticamente definir a estabilidade das emulsões. Os cristais de gordura penetram na camada interfacial dos glóbulos (GOFF *et al.* 1987), permitindo uma desestabilização mais eficiente da emulsão.

2.1.2 Os emulsificantes

Na indústria de alimentos, as emulsões caracterizam-se pela homogeneização da fase oleosa e da fase aquosa, na presença de um emulsificante (OGAWA; DECKER; MCCLEMENTS, 2003a), o qual possui um grupo terminal polar, que age mutuamente com as moléculas de água e um grupo hidrofóbico, o qual interage com a fase lipídica (ARAÚJO, 2001). É um ingrediente de superfície ativa que adsorve à superfície de gotículas formadas durante a homogeneização, diminuindo o diâmetro médio das gotículas nas emulsões produzidas e a tensão interfacial na interface das fases imiscíveis, dificultando desse modo o rompimento da gotícula, e conseqüentemente a quebra da emulsão (WALSTRA, 1996; STAUFFER, 1999).

Os emulsificantes melhoram a estabilidade das emulsões à agregação das gotículas, gerando forças repulsivas entre elas e/ou dando forma às membranas interfacial, em torno das gotículas, tornando-as resistentes à ruptura (MCCLEMENTS, 1999). Em geral, um bom emulsificante deve (1) adsorver rapidamente à superfície das gotículas do óleo durante a homogeneização (despolpamento), (2) diminuir a tensão interfacial, e (3) proteger as gotículas contra a agregação durante o processamento, armazenamento e utilização da emulsão (STANG; KARBSTEIN; SCHUBERT, 1994).

Uma variedade de diferentes tipos de emulsificantes sintéticos e naturais pode legalmente ser usada em emulsões alimentícias, incluindo emulsificantes de baixo peso molecular, fosfolipídios, proteínas e polissacarídeos (Quadro 1) (STAUFFER, 1999). Dentre os emulsificantes naturais que podem ser usados em alimentos, encontra-se a lecitina, um dos mais importantes na produção de emulsões compostas por misturas de fosfolipídios e gorduras (AGBOOLA *et al.* 1998). Segundo Ogawa, Decker e McClements (2003a), emulsificantes iônicos como a lecitina, adsorvem rapidamente na superfície da gotícula de óleo produzindo pequenas gotas durante a homogeneização.

Quadro 1. Agentes ativos na superfície do alimento.

A: Ocorrência Natural

1: IÔNICO: Proteínas, fosfolipídios e lecitina

2: NÃO-IÔNICO: glicolipídios

B: Sintético

1: IÔNICO: estearoil-2-lactilato

2: NÃO-IÔNICO: mono e diglicerídios e seus ésteres

Fonte: ARAÚJO, 2001.

Os emulsificantes iônicos estabilizam emulsões do tipo O/A (Figura 2). Na interface, os grupos alquila interagem com as gotículas de óleo, enquanto os grupos finais carregados se projetam para a fase aquosa. O envolvimento de íons contrários forma uma camada dupla, que previne a agregação das gotículas de óleo (ARAÚJO, 2001).

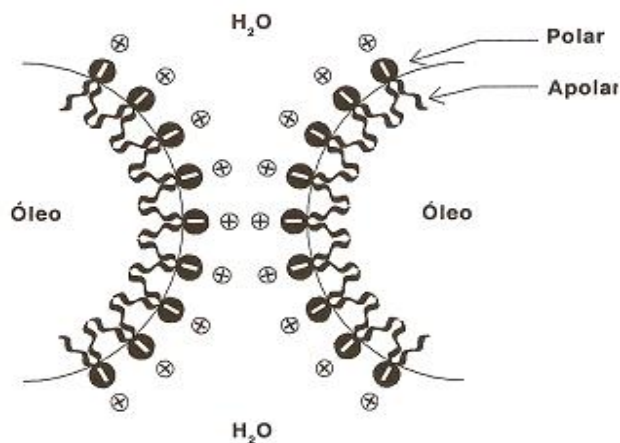


Figura 2. Atividade do emulsificante iônico em uma emulsão óleo em água.

Fonte: ARAÚJO, 2001.

Conseqüentemente, não existe um emulsificante ideal que possa ser utilizado em todos os alimentos. O desenvolvimento de um novo produto depende da seleção de um emulsificante apropriado, levando em consideração a composição e estrutura da matriz alimentar, mudanças durante o processamento, armazenamento e utilização (KROG, 1997).

2.1.3 A camada interfacial

A camada interfacial da maioria das emulsões O/A contém proteínas, muitas vezes misturadas com outros emulsificantes. As propriedades desta camada dependem não somente das quantidades dos materiais adsorvidos, mas também de suas estruturas. A composição da camada interfacial é governada principalmente pela composição da emulsão (DALGLEISH, 1997).

Se as proteínas forem os únicos emulsificantes, durante a adsorção, elas mudam sua conformação nativa para as outras formas, que dependem das interações hidrofóbicas entre a superfície e o aminoácido presente na cadeia lateral da proteína. Idealmente, as cadeias hidrofóbicas laterais se aproximam da superfície oleosa, e os resíduos hidrofílicos, da fase aquosa (HUNT; DALGLEISH, 1994; ARAÚJO, 2001).

Muitas proteínas adsorvidas existem em conformações diferentes de seu estado nativo (CORREDIG; DALGLEISH, 1995), embora para as proteínas globulares, mudanças na estrutura secundária sejam limitadas. Isto é um resultado da tendência de partes hidrofóbicas das moléculas adsorverem na interface hidrofóbica, com uma conseqüente distorção ou rompimento nas estruturas secundárias ou terciárias (DALGLEISH, 2006).

Assim, as propriedades das emulsões não podem ser preditas facilmente a partir das proteínas geradoras. Por exemplo, proteínas não desnaturadas não podem ser precipitadas na presença de Ca^{2+} ou de ácidos, mas suas emulsões são instáveis a ambos (AGBOOLA; DALGLEISH, 1995). Outras mudanças na conformação da proteína podem ser induzidas por outros meios, uma vez que a adsorção ocorreu, especialmente para as caseínas. Os aumentos na força iônica ou a presença de Ca^{2+} causam diminuição da espessura da camada, devido pequenas interações repulsivas entre as cargas das moléculas da proteína (BROOKSBANK *et al.* 1993).

2.1.4 As interações entre as gotículas na emulsão

As interações entre proteínas em camadas adsorvidas e proteínas na solução podem ser ajudadas pela presença de determinados íons, onde o cálcio é o mais importante, causando a floculação. Naturalmente, um aumento na força iônica desestabiliza a emulsão (DALGLEISH, 2006), mas o cálcio pode dar forma a pontes mais específicas entre gotículas da emulsão e materiais na solução (DICKINSON; DAVIES, 1999).

Deve-se também recordar que estes efeitos podem ser extremamente realçados pela agitação do alimento. Em tal caso, os íons adicionados podem ter um efeito muito forte (DALGLEISH, 2006). A base destes efeitos é o fato de que as proteínas carregam geralmente uma carga negativa na região 5-7 do pH e são, conseqüentemente, capazes de ligar os íons. Além disso, os íons pequenos alteram as conformações da proteína na camada.

2.2 IN(E)STABILIDADE DA EMULSÃO

A estabilidade das emulsões é governada por princípios termodinâmicos e, em termos absolutos, todas são instáveis em relação a suas fases. Contudo, existem processos que podem prevenir ou retardar essa desestabilização como a utilização de agentes emulsificantes (DARLING; BIRKETT, 1987). Existem cinco mecanismos que podem contribuir para a instabilidade da emulsão: *Creaming* (sedimentação), Floculação, *Ostwald ripening*, Coalescência e Coalescência Parcial (ROUSSEAU, 2000). Na Figura 3 é possível verificar os mais comuns em alimentos.

O *creaming* ocorre devido à diferença de densidades entre as duas fases sob a influência da gravidade, conduzindo a separação.

A floculação é descrita como a agregação das gotículas, devido a forças de atração fracas entre as partículas. Depende da interação de energia, a qual é o resultado da combinação de forças de atração e repulsão. Nas emulsões a atração depende das forças de van der Waals, e a repulsão da presença de emulsificantes na interface (MCCLEMENTS; DEMETRIADES, 1998).

A coalescência ocorre quando duas gotículas entram em colisão formando uma gotícula maior. Para esse fenômeno necessita-se de uma energia inicial, após isso a coalescência rapidamente ocorre. Ela pode ser completa quando as gotículas são totalmente líquidas ou parcial se as gotículas contém material cristalino. A coalescência parcial pode levar a inversão, onde uma emulsão óleo em água pode tornar-se água em óleo (ROUSSEAU, 2000).

O fenômeno de *Ostwald ripening* é o crescimento de grandes gotículas a custa de pequenas e está relacionado com o gradiente de solubilidade entre as gotículas. Não é relevante em emulsões alimentares, pois a solubilidade entre as fases aquosa e lipídica é limitada (ROUSSEAU, 2000).

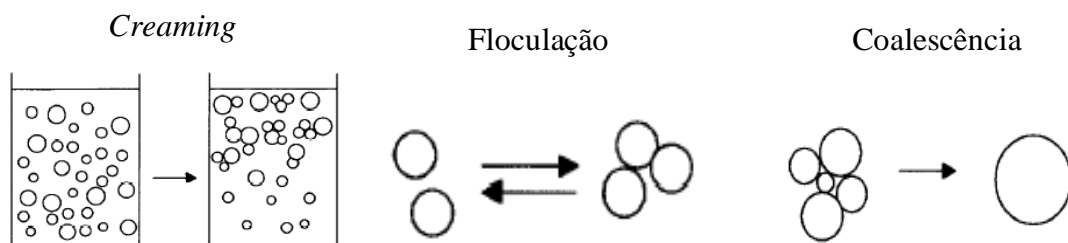


Figura 3. Esquemas de processos de instabilidade em emulsões óleo-água.

A capacidade de as proteínas manterem a mistura em uma força homogênea, quando submetida à ação de uma força ou calor, mede sua estabilidade. A velocidade com que as emulsões se desestabilizam pode ser fortemente influenciada pela composição da emulsão, condições ambientais (temperatura, pH, etc.), condições de processamento, viscosidade, entre outros. (SGARBIERI, 1996).

A viscosidade é uma variável que afeta a estabilidade da emulsão, havendo uma relação direta e linear entre essas duas propriedades. Quanto maior a viscosidade mais estável se apresenta a emulsão. Quando a temperatura aumenta, a viscosidade do óleo diminui fazendo com que aumente a área superficial e facilite a coalescência das partículas de lipídio (SGARBIERI, 1996).

A estabilidade depende fundamentalmente da composição da emulsão e do método de preparação. Os fatores internos que afetam a estabilidade da emulsão incluem o tipo e a concentração do emulsificante (proteína), a classe e a concentração dos componentes da fase dispersa e contínua, a viscosidade da fase contínua e o tamanho das gotículas (DANA, 1987). Os fatores externos podem se dar através de diferentes processos físico-químicos, que incluem a agitação, separação gravitacional, floculação e coalescência (MCCLEMENTS, 1999).

Alguns fatores que normalmente são estudados na estabilidade da emulsão são apresentados a seguir.

2.2.1 Diâmetro da gotícula da fase dispersa

O diâmetro das gotículas de lipídios dispersas em emulsão pode variar entre 0,1 e 50µm (FENNEMA, 1993).

A coalescência dos lipídios e a velocidade de sedimentação estão intimamente ligadas ao diâmetro das gotículas. A velocidade de sedimentação (V) é quantificada pela Lei de Stokes descrita pela equação 1 (JULIEN; NADEAU; DUMAIS, 1984):

$$V = \frac{1}{18 * \eta} * D^2 * g * (\rho_2 - \rho_1) \quad (1)$$

Onde: $(\rho_2 - \rho_1)$ = diferença entre a densidade da partícula dispersa (lipídio) e da fase contínua (aquosa).

D = diâmetro das gotículas da fase dispersa (lipídio),

η = viscosidade dinâmica da fase contínua,

g = aceleração da gravidade.

De acordo com a equação 1, para um dado valor de aceleração da gravidade, os fatores que determinam a velocidade de sedimentação são: o diâmetro da gotícula de lipídio, a diferença de densidade entre as fases, e a viscosidade. Assim, quanto menor o diâmetro da gota de lipídio presente na emulsão, menor será sua velocidade de sedimentação, conferindo maior estabilidade à emulsão. Vale ressaltar que, por estar elevado ao quadrado é preponderante nessa estabilidade.

Segundo Das e Kinsella (1990) a estabilidade da emulsão também está relacionada com o tamanho dos glóbulos de gordura. Porém, para eles, os argumentos termodinâmicos nem sempre são adequados para explicar os fenômenos envolvidos, uma vez que as gotículas pequenas apresentam maior área superficial, o que produziria um sistema com maior energia livre, levando a uma maior estabilidade. Além disso, segundo os autores, um aumento no diâmetro das gotículas de gordura provoca uma aceleração na velocidade de coalescência das emulsões, diminuindo sua estabilidade.

2.2.2 Composição da emulsão

A composição de uma emulsão influencia a estabilidade da mesma, pois há uma relação entre a quantidade de lipídios e de substâncias emulsificantes, exercendo um importante papel na manutenção da estabilidade.

A característica principal do emulsificante é a de possuir na mesma molécula partes hidrofílicas e hidrofóbicas separando-as e, impedindo que os glóbulos da fase interna coalesçam, o que resulta em quebra da emulsão. Emulsificantes mais polares são mais úteis na formação e na estabilidade de emulsões do tipo O/A (ARAÚJO, 2001).

Acredita-se que para o açaí, algumas proteínas e os fosfolipídios com suas propriedades emulsificantes são os principais responsáveis pela manutenção da emulsão. As proteínas por serem moléculas anfílicas, migram espontaneamente para a interface da emulsão O/A, indicando que a energia livre da proteína é maior na interface que na fase aquosa. Assim, quando o equilíbrio é estabelecido, a concentração de proteínas na região interfacial é sempre maior que na fase aquosa (SGARBIERI, 1996).

Diferentemente dos emulsificantes de baixo peso molecular, as proteínas formam um filme altamente visco-elástico na interface, com habilidade para resistir a choques mecânicos durante processamento, armazenamento e distribuição do alimento. Portanto, as proteínas que estabilizam emulsões são mais estáveis que aquelas preparadas com emulsificantes convencionais (ARAÚJO, 2001).

A maneira como as proteínas são adsorvidas na interface é diferente dos emulsificantes de baixo peso molecular, como os fosfolipídios. Este, em razão de as porções hidrofílica e hidrofóbica estarem presentes nas extremidades da molécula dos emulsificantes, não alteram sua conformação para efeito de adsorção e orientação. No caso das proteínas, a distribuição de grupos hidrofóbicos e hidrofílicos na superfície e a rigidez estrutura da molécula limitam sua adsorção e orientação (ARAÚJO, 2001).

2.2.3 pH e força iônica

O pH caracteriza o equilíbrio entre íons H^+ e OH^- de uma solução e sua mudança afeta o equilíbrio de ionização de grupos ácidos e básicos de uma proteína. Assim, mudanças no pH vão afetar a distribuição de cargas de uma proteína e, conseqüentemente, as interações eletrostáticas entre os grupos da proteína, entre a proteína e a fase aquosa e entre as próprias moléculas da fase aquosa (FONSECA *et al.* 2006).

As proteínas são particularmente sensíveis ao pH e aos efeitos da força iônica (MCCLEMENTS, 2004). O saldo de cargas se torna positivo, negativo ou até mesmo nulo quando o pH é equivalente ao ponto isoelétrico (pI), conferindo maior ou menor afinidade desta macromolécula pelas fases da solução (SGARBIERI, 1996).

A carga líquida da proteína e, conseqüentemente da camada de proteína adsorvida é altamente dependente do pH. Se este encontra-se próximo do pI da proteína, a carga líquida se aproxima de zero (Figura 5), apresentando máxima interação eletrostática entre os grupos carregados e interação mínima com a água e, assim, ocorrendo precipitação e agregação (ARAÚJO, 2001).

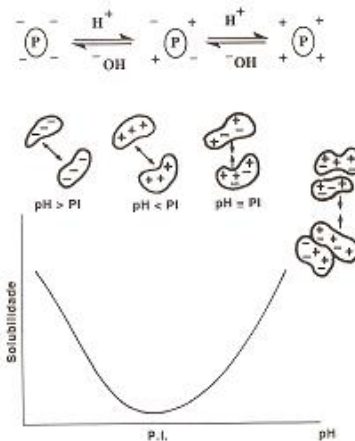


Figura 4. Comportamento eletrostático da proteína em função do pH.

Uma emulsão estável possui carga suficiente para prevenir a aproximação das gotículas suspensas. Um segundo mecanismo de estabilidade aparece a partir da flexibilidade da macromolécula adsorvida, estendida a alguns nanômetros dentro da solução; evitando a aproximação das gotículas durante a mistura mecânica e os efeitos termodinâmicos (ARAÚJO, 2001). A membrana interfacial formada pelas proteínas é relativamente fina e eletricamente carregada. Então, o melhor mecanismo para prevenir a floculação da gotícula de lipídio é a repulsão eletrostática e não a repulsão estérica (CLAESSON; BLOMBERG; POPTOSHEV, 2004).

As proteínas tendem a flocular em valores de pH distantes do pI em que adsorvem e também quando a força iônica excede um nível particular, devido a repulsão eletrostática entre as gotículas (MCCLEMENTS, 1999 *apud* MCCLEMENTS, 2004).

Íons multivalentes como Ca^{2+} , Fe^{2+} e Fe^{3+} são particularmente eficientes em promover a instabilidade da emulsão, como visto na Figura 5, devido serem mais seletivos nas interações eletrostáticas e por ligarem as superfícies das gotículas, provocando o colapso da camada eletrostática (KEOWMANEECHAI; MCCLEMENTS, 2002). Além disso, provocam um aumento no tamanho da gotícula em concentrações muito menores que os íons monovalentes.

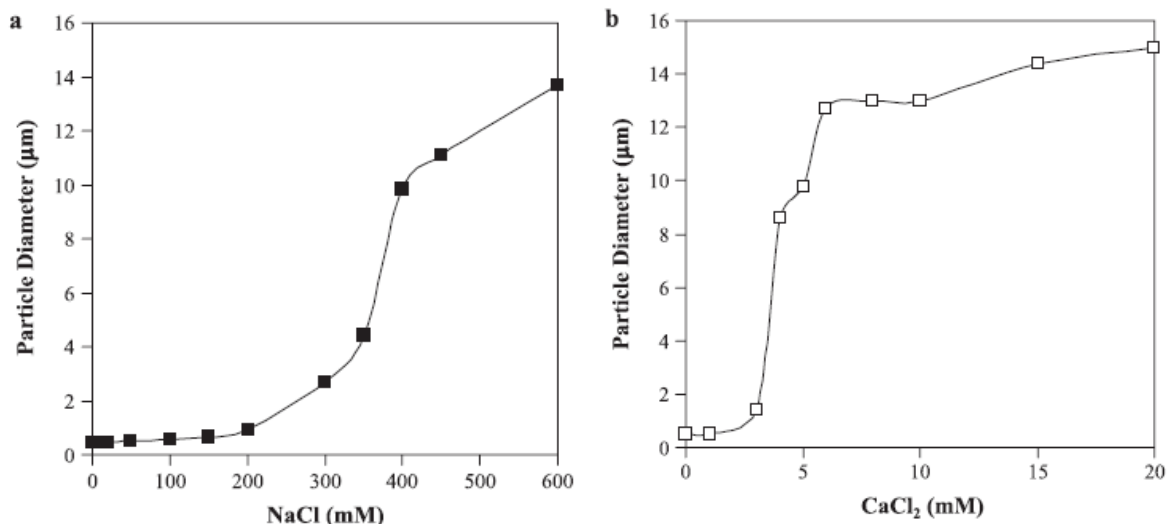


Figura 5. Efeito do cloreto de sódio (a) e do cloreto de cálcio (b) no diâmetro da gotícula de uma emulsão O/A de óleo de soja estabilizada por proteínas. Fonte: MCCLEMENTS, 2004.

2.2.4 Temperatura

A temperatura atua indiretamente na estabilidade da emulsão por alterar a tensão interfacial, a adsorção de proteínas ou emulsificantes e a viscosidade. Devido a tensão interfacial e a viscosidade diminuírem com o aumento da temperatura, torna-se favorável a formação da emulsão, entretanto, o modo como a temperatura aumenta ou diminui pode causar a coagulação das partículas, desestabilizando a emulsão (CHEN; TAO, 2004).

Emulsões estabilizadas por proteínas são particularmente sensíveis ao tratamento térmico, devido as proteínas desnaturarem quando a temperatura excede um valor crítico expondo grupos reativos originalmente localizados no seu interior, por exemplo, grupos não polares ou grupos sulfidril (KIM; DECKER; MCCLEMENTS, 2002). Estes grupos aumentam a atração entre as proteínas que são adsorvidas e as diferentes gotículas, alterando desse modo, a suscetibilidade da emulsão à floculação das gotículas ou a coalescência (MCCLEMENTS, 2004).

A temperatura ideal para a manutenção de uma emulsão está em torno de 20°C (SGARBIERI, 1996). No caso do açaí, isso é verificado quando o produto é submetido a tratamento térmico de pasteurização, onde a bebida é exposta a temperaturas de 80 ó 90°C, facilitando a separação do óleo; facilmente observada na superfície da bebida.

À temperatura ambiente, grande parte das proteínas que estabilizam emulsões são estáveis a floculação a pH = 7 e na ausência de sal, devido a força de repulsão eletrostática entre as gotículas. Por outro lado, tornam-se instáveis quando a concentração de sal aumenta (Figura 6). A temperaturas relativamente baixas (<65°C) a floculação da gotícula ocorre devido a desnaturação e, quando a temperatura aumenta acima da temperatura de desnaturação ($T_m \sim 70^\circ\text{C}$) e na presença de sal, as proteínas desnaturadas tornam-se mais extensivas favorecendo a floculação da gotícula (MCCLEMENTS, 2004).

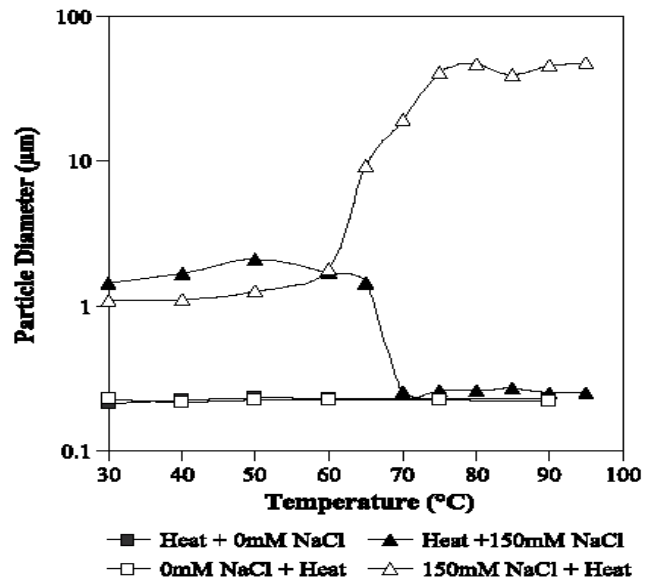


Figura 6. Influência do tratamento térmico e adição de sal no diâmetro da gotícula de uma emulsão O/A de n-hexadecano. Fonte: MCCLEMENTS, 2004.

2.3 O AÇAÍ

2.3.1 Generalidades

Segundo Rogez (2000), o açazeiro (*Euterpe oleracea*) é uma palmeira típica da região amazônica, encontrada tanto em solos de terra firme, profundo e de boa drenagem, quanto em terrenos de igapó, quase sempre inundados. Produz o palmito, e de seus frutos obtém-se uma bebida denominada açaí.

Existem algumas variedades de fruto como o Preto, o Tinga e o Verde. O *Preto* (ou roxo) é a variedade predominante: os seus frutos quando maduros possuem uma polpa escura e brilhante. Os frutos das variedades *Verde* (ou branco) e *Tinga* (ou Una) produzem uma polpa de cor esverdeada e conseqüentemente um suco verde claro (amarelado), sendo menos encontrado e pouco consumido no mercado paraense (ROGEZ, 2000).

O preparo da bebida tradicionalmente ocorre em duas etapas: na primeira faz-se o amolecimento dos frutos em água à temperatura de 45°C e na segunda, o despulpamento destes em máquinas elétricas convencionais, com adição de água.

Na cidade de Belém, o açaí é comercializado com o nome de açaí seguido da especificação do tipo de consistência (viscosidade) da bebida sob a qual é fabricada. Conforme legislação vigente (BRASIL, 2000), essa variação de consistência é oriunda da adição de diferentes proporções de água durante o despulpamento, classificando o produto em:

- *Açaí fino*: polpa apresentando de 8% a 11% de sólidos totais e aparência pouco densa;
- *Açaí médio*: polpa apresentando de 11% a 14% de sólidos totais e aparência densa;
- *Açaí grosso*: polpa apresentando mais de 14% de sólidos totais e aparência muito densa.

2.3.2 Composição nutricional do açaí

O açaí é um produto muito nutritivo e de grande aceitação entre as classes populares, principalmente do norte paraense, constituindo um dos componentes básicos de sua alimentação. Vem conquistando desde 1996 consumidores em nível nacional, principalmente das regiões Sul e Sudeste do Brasil, atraídos pelas suas propriedades calóricas, medicinais e nutricionais (ROGEZ *et al.* 1997).

O açaí é considerado um alimento de alto valor calórico, em função do elevado percentual de lipídios, e nutricional, pois é rico em proteínas e minerais. A composição química e o valor nutricional do açaí são discriminados na Tabela 1.

Tabela 1. Teores em nutrientes da bebida açaí com 12,5% de matéria seca.

| Composição | Quantidade na matéria seca |
|---------------------|----------------------------|
| pH | 5,23 ± 0,27 |
| Proteínas (%) | 10,05 ± 1,15 |
| Lipídios totais (%) | 52,64 ± 5,23 |
| Frutose (%) | 1,36 ± 0,69 |
| Glicose (%) | 1,55 ± 0,50 |
| Sacarose (%) | 0,05 ± 0,09 |
| Fibras Brutas (%) | 25,22 ± 6,71 |
| Cinzas Totais(%) | 3,09 ± 0,84 |
| Na (g/Kg M.S.) | 0,76 ± 0,42 |
| K (g/Kg M.S.) | 9,90 ± 3,37 |
| Ca (g/Kg M.S.) | 3,09 ± 1,04 |
| Mg (g/Kg M.S.) | 1,78 ± 0,53 |
| Fe (g/Kg M.S.) | 20,59 ± 7,26 |
| Cu (g/Kg M.S.) | 13,76 ± 4,40 |
| Zn(g/Kg M.S.) | 17,30 ± 6,42 |
| P (g/Kg M.S.) | 1,47 ± 0,52 |

M.S. = matéria seca; Fonte: ROGEZ, 2000.

Os lipídios são os maiores constituintes do açaí, representando em termos quantitativos um valor médio de 50% da matéria seca da bebida, sendo, portanto, a principal fonte de suas calorias (90%). Além disso, apresenta um perfil de ácidos graxos (Tabela 2) particularmente interessante do ponto de vista nutricional, com 60% de monoinsaturados e 13% de poliinsaturados. Entretanto, a elevada proporção de insaturados facilita sua oxidação, o que contribui para a rancificação da bebida (ROGEZ, 2000).

Tabela 2. Composição de ácidos graxos dos lipídios do açaí.

| Ácidos graxos (% totais) | Lubrano, Robin e Khaiat (1994) | Rogez <i>et al.</i> (1996) |
|--------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| C 16:0 (palmítico) | 22 | 25,9 |
| C 18:0 (esteárico) | 2 | 1,6 |
| C 20:0 (araquídico) | – | 2,5 |
| C 16:1 (palmitoléico) | 4,9 | 2 |
| C 18:1 (oléico) | 54,9 | 60 |
| C 18:2 (linoléico) | 11,5 | 12 |
| C 18:3 (linolénico) | 1,1 | Traços |

Fonte: ROGEZ, 2000.

Em relação às proteínas, um litro de açaí médio contém 12,6g de proteínas, o que representa 25-30% da quantidade nutricional diária recomendada para um adulto. Parte destas proteínas, provavelmente são as responsáveis pela emulsificação dos lipídios presentes na bebida açaí (ROGEZ, 2000), uma vez que em vários produtos alimentícios desempenham função emulsificante (ARAÚJO, 2001).

O conteúdo de fibras é notavelmente elevado, em média 25% da matéria seca, tornando-se dessa maneira o segundo constituinte em maior quantidade no açaí e, provavelmente, importante na estabilidade da emulsão do açaí (ROGEZ, 2000).

Também, apresenta um elevado teor de compostos fenólicos, principalmente de antocianinas, com cerca de 1,02g /100g de matéria seca. As antocianinas são pigmentos naturais pertencentes à família dos flavonóides, sendo estas responsáveis pela cor do açaí. Além disto, possuem função antioxidante, podendo evitar a oxidação de lipoproteínas e proteger o organismo contra o acúmulo de placas de depósito de lipídios, causadores da arteriosclerose (ROGEZ, 2000).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Matéria-Prima

Para a realização deste estudo foram utilizados frutos frescos de açaí. Os frutos foram coletados no dia de cada manipulação e acondicionados em sacos plásticos até a chegada ao laboratório. O tempo desde a coleta até a chegada ao laboratório foi inferior a 6 horas.

Para a otimização do processo de separação da gordura através da centrifugação foram utilizados frutos de açaí de três diferentes localidades: Ilha das Onças (Barcarena - PA), Ilha do Cumbu (Acará - PA) e município de Abaetetuba, a fim de verificar a influência do tempo e da velocidade de rotação.

Para estudar a influência da adição de CaCl_2 , mudança de pH e o tratamento térmico, na desestabilização da emulsão, foram utilizados frutos provenientes da ilha do Cumbu (Acará - PA).

Todas as coletas foram realizadas no período de agosto a dezembro de 2006, o qual corresponde a safra de verão ou alta estação, onde os frutos são mais numerosos e seu nível de maturação mais homogêneo.

3.2 Métodos

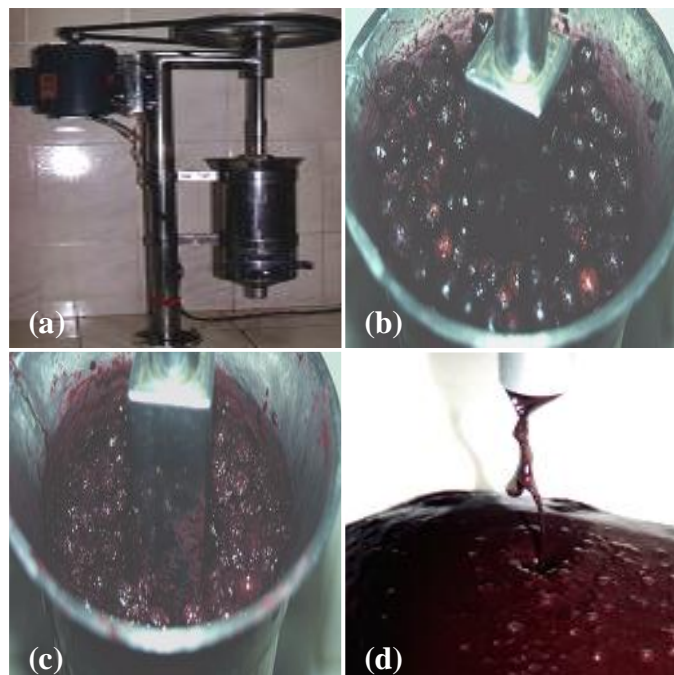
3.2.1 Preparo da emulsão do açaí

Após a chegada dos frutos ao laboratório, foram realizadas as seguintes etapas: pesagem e lavagem dos frutos, amolecimento dos frutos ($45^\circ\text{C}/1\text{h}$) seguido de despolpamento padrão, proposto por Rogez (2000), utilizando a relação 0,55:1 (1000g de água: 1800g de frutos). A quantidade total de água usada durante o despolpamento foi separada em 5 frações de 200g, as quais foram adicionadas continuamente a cada 45 segundos a partir do primeiro minuto de despolpamento, de acordo com o esquema apresentado no Quadro 2. O tempo total de despolpamento foi de 4 minutos e 45 segundos. Com este protocolo obteve-se um açaí com 12% de matéria seca.

Quadro 2. Protocolo para o despulpamento padrão dos frutos de açaí.

| Tempo | Quantidade de água (g) |
|---|------------------------|
| 0 ϕ 00 ϕ - 1 ϕ 00 ϕ | 0 |
| 1 ϕ 00 ϕ - 1 ϕ 45 ϕ | 200 |
| 1 ϕ 45 ϕ - 2 ϕ 30 ϕ | 200 |
| 2 ϕ 30 ϕ - 3 ϕ 15 ϕ | 200 |
| 3 ϕ 15 ϕ - 4 ϕ 00 ϕ | 200 |
| 4 ϕ 00 ϕ - 4 ϕ 45 ϕ | 200 |

O despulpamento padrão foi realizado utilizando uma máquina de aço inoxidável convencional (Figura 7a). O movimento circular das palhetas provoca o atrito entre palhetas e frutos e entre frutos, e com a adição de água a emulsão é formada. O processo basicamente é constituído de três etapas: (b) o desprendimento da polpa em relação ao caroço; (c) formação da emulsão (dispersão da fase oleosa na bebida) e incorporação de ar e por último (d) a filtração da bebida em peneira de 0,6 mm.

**Figura 7.** Despulpamento de frutos de açaí em máquina elétrica.

Foram realizados alguns testes a fim de verificar o efeito da temperatura da água de amolecimento sobre o diâmetro médio da gotícula de lipídio formada. Os frutos passaram pelo procedimento descrito anteriormente, com modificações apenas na etapa de amolecimento, a qual se deu alternando a permanência dos frutos em tanques com água a temperatura de 0°C e 50°C. A temperatura inicial do molho foi de 0°C seguido de 50°C e assim sucessivamente, por um período de 80 minutos, sendo 20 minutos em cada temperatura.

Após cada despulpamento, uma parte do suco passou pelos tratamentos previstos e descritos a seguir (centrifugação, adição de sal, mudança de pH, tratamento térmico) e uma outra parte foi imediatamente congelada em nitrogênio líquido para análises posteriores.

3.2.2 Determinação do teor aproximado de lipídios retirado da emulsão

A emulsão obtida no despulpamento foi dividida em tubos de 2 mL e levados para centrifugação (Figura 8) (Excelsa 4 280R - Fanen - Brasil), a qual ocorreu à temperatura ambiente (25°C).

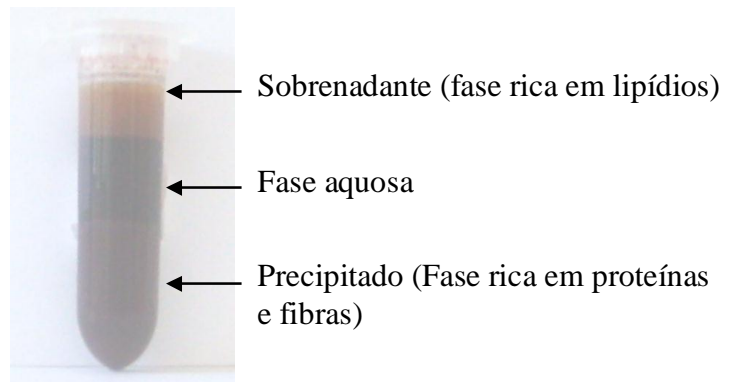


Figura 8. Separação das fases na emulsão de açaí após a centrifugação.

Após a centrifugação, houve a formação de três fases e o sobrenadante foi retirado com auxílio de uma espátula e, a fase aquosa e o precipitado foram homogeneizados para a determinação de matéria seca. O percentual de matéria seca também foi determinado na emulsão antes da centrifugação e por diferença encontrou-se a quantidade de matéria seca no sobrenadante. A fim de verificar quanto de lipídios foi retirado da emulsão pelo processo, considerou-se que a fase sobrenadante era constituída predominantemente de lipídios e este, segundo Rogez (2000), corresponde a aproximadamente 50% da matéria seca da bebida. Para todos os tratamentos aplicados neste trabalho, o cálculo da quantidade de lipídios retirada por centrifugação se deu dessa forma.

3.2.3 Otimização do processo de separação da gordura da emulsão de açaí

A metodologia de superfície de resposta foi utilizada para avaliar a influência das variáveis sobre o processo de separação da gordura do açaí. Os ensaios experimentais foram realizados de acordo com um planejamento Compósito Central, composto de 4 pontos fatoriais (níveis ± 1), 3 pontos centrais (nível 0) e 4 pontos axiais (\pm), totalizando 11 ensaios, os quais foram realizados em triplicata, com exceção do ponto central.

Este planejamento teve como objetivo avaliar o efeito do tempo e da velocidade de rotação (variáveis independentes) na centrifugação sobre a variável de resposta: % de matéria-seca encontrada na emulsão do açaí. Na Tabela 3, estão apresentadas as médias das respostas para as variáveis estudadas.

Tabela 3. Plano experimental usando Compósito Central sobre as variáveis independentes tempo e velocidade de rotação para a otimização da separação de lipídios da emulsão de açaí após centrifugação tendo como resposta o % de matéria seca encontrada no sobrenadante.

| Variáveis | Níveis | | | | |
|----------------------------------|---------------------|------------|-----------------------|-------------------|-----------------|
| | (-) | (-1) | 0 | (+1) | (+) |
| (X ₁) Tempo (min.) | 1* | 2 | 5 | 8 | 10 |
| (X ₂) Velocidade (g) | 1500 | 3000 | 6000 | 9000 | 10500 |
| Ensaio | Variáveis originais | | Variáveis codificadas | | Respostas |
| | Tempo | Velocidade | (X ₁) | (X ₂) | Y |
| 1 | 2 | 3000 | - | - | Y ₁ |
| 2 | 2 | 9000 | - | + | Y ₂ |
| 3 | 8 | 3000 | + | - | Y ₃ |
| 4 | 8 | 9000 | + | + | Y ₄ |
| 5 | 1 | 6000 | - | 0 | Y ₅ |
| 6 | 10 | 6000 | + | 0 | Y ₆ |
| 7 | 5 | 1500 | 0 | - | Y ₇ |
| 8 | 5 | 10500 | 0 | + | Y ₈ |
| 9(C) | 5 | 6000 | 0 | 0 | Y ₉ |
| 10(C) | 5 | 6000 | 0 | 0 | Y ₁₀ |
| 11(C) | 5 | 6000 | 0 | 0 | Y ₁₁ |

Y = Respostas em % matéria seca retirada do açaí após centrifugação. C = Ponto central. = 1,4142. * O valor de (-) corresponde a 57 segundos, porém a centrífuga usada neste trabalho opera com o tempo mínimo de 1 minuto.

Um segundo experimento foi realizado usando velocidades que variaram de 1500g à 6000g com intervalo de 500g, a fim de determinar a velocidade crítica de quebra da emulsão. O tempo de rotação foi de 1 (um) minuto para estes ensaios.

3.2.4 In(e)stabilidade da emulsão ao stress ambiental

Foi estudada a influência de vários tipos de stress ambiental sobre o diâmetro da gotícula de lipídio, índice de atividade emulsificante (IAE), estabilidade da emulsão (EE), além do % de matéria seca retirada após centrifugação de emulsões de açaí com 12% de matéria seca obtido através de despolpamento padrão.

3.2.4.1 Adição de CaCl₂

Emulsões de açaí contendo concentrações de 8, 9,7, 13, 18, 28, 58 e 108 mM de cloreto de cálcio foram preparadas adicionando o sal diretamente na emulsão. A concentração de 8 mM corresponde a quantidade de cálcio naturalmente presente na emulsão de açaí após o despolpamento. Após 2 minutos de homogeneização manual com auxílio de um bastão de vidro para completa dissolução do sal, as amostras foram levadas para análise a fim de constatar o possível aumento do diâmetro da gotícula de lipídio. Também foi verificado se a adição de sal facilitava a separação de lipídios durante a centrifugação¹, a qual se deu a 6000g durante 5 minutos, seguido de retirada do sobrenadante e determinação da matéria seca na fase aquosa e no precipitado, após homogeneização das mesmas. O efeito da adição de CaCl₂ foi verificado tanto em emulsões com amolecimento normal (45 °C/1h) quanto naquelas que tiveram a temperatura alternada entre 0 e 50 °C.

3.2.4.2 pH

As emulsões tiveram seu pH ajustado num intervalo variando de 3,5 a 7,5 usando solução de HCl ou NaOH 0,1 M. Após 1 (uma) hora à temperatura ambiente afim de que ocorresse o equilíbrio, os pHs das amostras foram ajustados novamente caso necessário. Em seguida, as amostras foram submetidas ao tratamento térmico e o diâmetro da gotícula, o IAE e a EE determinados.

¹ A centrifugação ocorreu a 6000g durante 5 minutos, que corresponde ao ponto central do planejamento, para assegurar que o máximo de lipídio fosse retirado das emulsões. Mais tarde, com o tratamento estatístico dos dados verificou-se que a 3000g, a emulsão já havia sido desestabilizada.

3.2.4.3 Estabilidade térmica

Para verificar a estabilidade da emulsão de açaí em relação à temperatura, 10mL de suco de açaí foram colocados em tubos de vidro (diâmetro interno = 17 mm, altura = 175 mm), sendo estes colocados em banho-maria (Quimis - Brasil) durante 20 minutos em temperaturas constantes de 25, 50, 60, 70, 80 e 90 °C. Imediatamente após cada tratamento, as amostras foram resfriadas, para aproximadamente 30 °C e o diâmetro da gotícula determinado.

3.2.5 Determinação da matéria seca

3.2.5.1 Reagentes e Equipamentos

- Estufa
- Dessecador
- Cadinhos de porcelana

3.2.5.2 Procedimento

A matéria seca foi determinada pelo método da AOAC (1997). As amostras foram pesadas e colocadas em estufa a uma temperatura de 105 °C, por um período de 4 horas. Em seguida, foram resfriadas em dessecador e pesadas novamente.

3.2.6 Determinação do diâmetro das gotículas de lipídios

3.2.6.1 Reagentes e Equipamentos

- Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) - Sigma (EUA)
- Preto de Sudan (corante)
- Lâminas para microscopia - Perfecta
- Microscópio Leica DMR (Alemanha)
- Espectrofotômetro Ultrospec 2000, UV/visível ó Pharmacia Biotech (EUA)

3.2.6.2 Procedimento

A determinação do diâmetro das gotículas de lipídio da emulsão de açaí foi realizada de acordo com a metodologia de Pearce e Kinsella (1978). Imediatamente após a formação da emulsão e do tratamento aplicado (adição de sal, tratamento térmico e mudança de pH), a amostra foi diluída 500 vezes em SDS (Dodecil Sulfato de Sódio) a 0,1% e homogeneizada. Sua absorbância foi lida a 700 nm a fim de determinar a turbidez da amostra obtida pela equação 2:

$$T = \frac{2,303 * A * f}{L} \quad (2)$$

Onde: T = turbidez, A = absorvância a 700 nm, f = fator de diluição e L = caminho óptico da cubeta.

A partir da turbidez da amostra, determina-se o raio da gotícula através da equação 3.

$$R = \frac{3 * \theta}{2 * T} \quad (3)$$

Onde: R = raio da gotícula de lipídio, θ = fração lipídica da emulsão com 12% de matéria seca e T = turbidez.

Em adição ao método descrito anteriormente, também foi realizada a visualização do diâmetro das gotículas de lipídio das emulsões por microscopia (Figura 9). Em uma lâmina foram adicionadas gotas de açaí previamente diluído em solução de SDS 0,1%, seguido da adição de gotas de solução do corante Preto de Sudan (composto apolar facilitador da visualização das gotas de lipídio). As amostras foram observadas em lentes com aumento de 500 vezes. Para a determinação do diâmetro médio realizou-se a captura da imagem.



Figura 9. Microscópio Leica DMR com análise de imagens.

3.2.7 Determinação dos lipídios

3.2.7.1 Reagentes e Equipamentos

- Éter de Petróleo - Synth (Brasil)
- Extrator sohxlet
- Balança analítica AS200 - Marte (Brasil)
- Estufa - Fabres (Brasil)

3.2.7.2 Procedimento

A determinação dos lipídios foi realizada de acordo com a metodologia descrita pela AOAC (1997), utilizando éter de petróleo como solvente de extração a uma temperatura de 60 °C, durante 3 horas.

3.2.8 Determinação de proteínas

3.2.8.1 Reagentes e Equipamentos

- Sulfato de Sódio - Merck (EUA)
- Sulfato de Cobre - Merck (EUA)
- Dióxido de Selênio - Merck (EUA)
- Ácido Bórico - Vetec (Brasil)
- Ácido Clorídrico - Synt (Brasil)
- Ácido Sulfúrico - Synt (Brasil)
- Bloco Digestor TE 10018 - Tecnal (Brasil)
- Destilador de Nitrogênio MA 036 - Marconi (Brasil)

3.2.8.2 Procedimento

O teor de proteína total (N x f), para as amostras de suco de açaí, foi determinado pelo método de Kjeldhal (AOAC, 1997). Foi utilizado o fator de 6,25 para a realização dos cálculos.

3.2.9 Determinação do índice de atividade emulsificante (IAE)

O IAE mede a capacidade da proteína em permanecer na interface óleo/água, logo após a formação da emulsão, e foi realizado segundo o método espectrofotométrico de Pearce e Kinsella (1978) modificado por Duarte *et al.* (1998).

3.2.9.1 Reagentes e Equipamentos

- Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) - Sigma (EUA)
- Cloreto de Sódio - Synt (Brasil)
- Espectrofotômetro Ultrospec 2000, UV/visível ó Pharmacia Biotech (EUA)

3.2.9.2 Procedimento

Resumidamente, após ajuste da temperatura para 20°C, 30 mL de emulsão e 10 mL de óleo de milho foram homogeneizados, em liquidificador, durante 1 (um) minuto na velocidade máxima. Após diluição em SDS 0,1% e NaCl 0,1 M, a absorbância de alíquotas dessa emulsão foram medidas em espectrofotômetro a 700 nm. O IAE foi calculado através da equação (4).

$$IAE = \frac{2 * T}{(1 - \theta) * C} \quad (4)$$

Onde: T = turbidez, θ = fração lipídica da emulsão e C = concentração de proteína.

3.2.10 Determinação da estabilidade da emulsão (EE)

Refere-se à habilidade de uma emulsão permanecer inalterada durante um determinado período de tempo. Normalmente, a estabilidade é aferida por meio de exposição da emulsão à temperaturas elevadas ou choques térmicos (ORNELAS; SILVA; SILVESTRE, 2001).

3.2.10.1 Reagente e Equipamentos

- Dodecil Sulfato de Sódio - Sigma (EUA)
- Cloreto de Sódio - Synt (Brasil)
- Banho-maria - Quimis - (Brasil)
- Espectrofotômetro Ultrospec 2000, UV/visível ó Pharmacia Biotech (EUA)

3.2.10.2 Procedimento

Foi realizada através da metodologia de Chobert, Bertrand-Harb e Nicholas (1988) modificada por Duarte *et al.* (1998), para verificar o comportamento da emulsão em relação às variáveis estudadas. Assim, as absorbâncias das emulsões formadas para a determinação do IAE logo após a sua formação, corresponderam ao IAE máximo (IAE *máx*). Após um período de 24 horas de armazenamento sob refrigeração, foram lidas novamente, como também, após aquecimento a 80 °C por 30 min. Calculou-se, então, o IAE %, através da equação (5).

$$\Delta IAE\% = \frac{(IAE_{máx} - IAE_{min}) * 100}{IAE_{máx}} \quad (5)$$

Onde: $IAE_{máx}$ = maior valor obtido para as emulsões diluídas logo após sua formação, IAE_{min} = menor valor de IAE, obtido pelas alíquotas após armazenamento por 24 horas ou pelas alíquotas após o aquecimento a 80 °C.

Os valores de EE foram calculados pela equação (6).

$$EE = \frac{1}{\Delta IAE\%} \quad (6)$$

3.2.11 Análise estatística

Os resultados obtidos, baseados na metodologia proposta para a otimização do processo de separação dos lipídios da emulsão do açaí, foram analisados através dos programas STATISTICA para Windows (versão 5.5; USA) através de superfície de resposta e JMP (Copyright 2000 by SAS Institute Inc., Design of Experiments, versão 4; USA), através de análise de variância (ANOVA). Considerando como variáveis independentes: a velocidade de rotação da centrífuga (g), tempo de rotação (min) e a procedência; e de resposta: o percentual de matéria seca retirado da emulsão do açaí. O teste *t de student* (a um nível de significância de 95%) foi aplicado através do programa EXCEL para Windows. Para os outros tratamentos avaliados na bebida, como a adição de $CaCl_2$, variação de pH e tratamento térmico. Todas as amostras foram analisadas em duplicata e algumas em triplicata.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O estudo dos fatores que podem influenciar a estabilidade da emulsão do açaí foi realizado a fim de verificar o efeito de algumas variáveis como a velocidade e o tempo de centrifugação, adição de CaCl_2 , tratamento térmico e variação de pH. Os resultados desses tratamentos foram analisados através da determinação do diâmetro médio das gotículas de lipídios na bebida e a percentagem de matéria seca encontrada no sobrenadante após centrifugação da emulsão.

4.1 Influência da velocidade e do tempo de centrifugação

Inicialmente foi realizado um primeiro experimento baseado em um planejamento experimental a fim de definir as melhores condições de separação da fase oleosa da emulsão do açaí. As variáveis independentes foram: velocidade e tempo de rotação, e dependente (resposta): percentagem de matéria seca encontrada no sobrenadante após a centrifugação. Também foi analisada a variável procedência (categórica).

A Tabela 4 sintetiza os resultados experimentais obtidos após centrifugação do açaí médio de três procedências com teor fixo de 12% de matéria seca. Esse teor foi padronizado para a bebida neste estudo através do despolpamento utilizando o protocolo padrão citado anteriormente. Observando os valores brutos é possível perceber que em 1500g a emulsão ainda não foi desestabilizada para o açaí de Ilha das Onças e Cumbu, contudo, para o açaí de Abaetetuba a mesma desestabilizou nesta velocidade. Assim, a procedência apresentou-se significativa sobre a resposta sendo, portanto, uma variável importante na análise estatística.

Tabela 4. Resultados experimentais da percentagem de matéria seca encontrada no sobrenadante após centrifugação de emulsões obtidas de frutos das procedências de Abaetetuba, Cumbu e Ilha das Onças.

| Ensaio | Tempo (min.) | Velocidade (g) | Y _{Abaetetuba} | Y _{Cumbu} | Y _{Ilha das Onças} |
|--------|--------------|----------------|-------------------------|--------------------|-----------------------------|
| 1 | 2 (-1) | 3000 (-1) | 28,45 | 22,55 | 20,71 |
| 2 | 2 (-1) | 9000 (+1) | 29,92 | 27,19 | 22,30 |
| 3 | 8 (+1) | 3000 (-1) | 28,85 | 27,28 | 20,52 |
| 4 | 8 (+1) | 9000 (+1) | 29,56 | 28,45 | 24,09 |
| 5 | 1 (-) | 6000 (0) | 29,89 | 27,83 | 21,32 |
| 6 | 10 (+) | 6000 (0) | 28,84 | 29,16 | 21,86 |
| 7 | 5 (0) | 1500 (-) | 24,13 | 17,31 | 11,17 |
| 8 | 5 (0) | 10500 (+) | 29,70 | 28,81 | 20,53 |
| 9(C) | 5 (0) | 6000 (0) | 32,15 | 28,46 | 20,69 |
| 10(C) | 5 (0) | 6000 (0) | 30,28 | 29,11 | 20,74 |
| 11(C) | 5 (0) | 6000 (0) | 30,02 | 28,28 | 20,74 |

Os números entre parênteses representam os níveis das variáveis no planejamento experimental. Y = Respostas em % matéria seca encontrada no sobrenadante do açaí após centrifugação para as procedências analisadas. C = Ponto central. = 1,4142.

A Tabela 5 apresenta a síntese da análise estatística obtida para as variáveis contínuas, velocidade e tempo de rotação e para a variável categórica procedência. Observa-se que as velocidades de rotação linear e quadrática apresentaram efeito altamente significativo para a resposta, sendo o último com coeficiente negativo muito baixo, ou seja, ocorre a diminuição do teor de matéria seca em função do aumento da velocidade, a partir de um valor crítico, o qual, segundo a Figura 10, corresponde a 6000g. Ao contrário, os tempos de rotação linear e quadrático não influenciaram no processo de separação. Esse comportamento pode ser visualizado na Figura 10, que apresenta a superfície de resposta para os resultados de Abaetetuba.

A Figura 10 também aponta que, em torno de 3000g e 1 minuto de centrifugação, já ocorreu a desestabilização da emulsão e que um aumento na velocidade não causa aumentos significativos sobre a resposta.

Tabela 5. Coeficientes de regressão e significância dos efeitos para as variáveis independentes sobre a resposta percentagem de matéria seca encontrada no sobrenadante após centrifugação ($p < 0,05$) da emulsão.

| Variáveis | Coefficiente de regressão | Erro padrão | p |
|-------------------------------------|---------------------------|-------------|---------|
| Média | 26,17089 | 1,36927 | <0,0001 |
| Tempo | -0,07513 | 0,33249 | 0,8219 |
| Velocidade | 0,0045 | 0,00018 | <0,0001 |
| Procedência [Cum-Aba] | -4,22026 | 0,89382 | <0,0001 |
| Procedência [Ilha-Cum] | -4,94421 | 0,89140 | <0,0001 |
| Procedência [Ilha-Aba] | -9,15068 | 0,88632 | <0,0001 |
| Tempo * Velocidade | -0,000059 | 0,00003 | 0,0559 |
| Tempo * Procedência [Cum-Aba] | 0,38715 | 0,13091 | 0,1521 |
| Tempo * Procedência [Ilha-Cum] | -0,21141 | 0,15216 | 0,1690 |
| Tempo * Procedência [Ilha-Aba] | 0,17557 | 0,15083 | 0,2505 |
| Velocidade * Procedência [Cum-Aba] | 0,00043 | 0,00015 | 0,0057 |
| Velocidade * Procedência [Ilha-Cum] | -0,00018 | 0,00015 | 0,2259 |
| Velocidade * Procedência [Ilha-Aba] | 0,00024 | 0,00015 | 0,1066 |
| Tempo * Tempo | 0,00389 | 0,0296 | 0,8959 |
| Velocidade * Velocidade | -2,122e-7 | 3,014e-8 | <0,0001 |
| | GL | SS | SQ |
| Falta de Ajuste | 15 | 134,39510 | 8,95967 |
| Erro Puro | 56 | 55,19821 | 0,98568 |
| Erro Total | 71 | 189,59331 | |

$R^2 = 0,8944$, Aba = Abaetetuba, Cum = Cumbu, Ilha = Ilha das Onças, GL = Graus de liberdade, SS = Soma dos quadrados, SQ = Quadrado médio, Falta de Ajuste = $p < 0,001$.

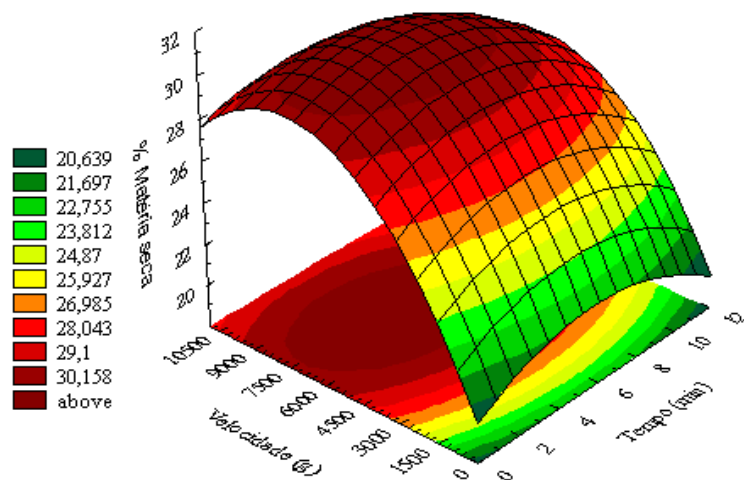


Figura 10. Evolução da percentagem de matéria seca encontrada no sobrenadante após centrifugação em função do tempo e da velocidade de rotação para um açaí de Abaetetuba.

Neste estudo, a variável procedência foi a que apresentou maior influência sobre a retirada de matéria seca da emulsão de açaí, entretanto com coeficiente negativo, resultando na diminuição da resposta quando comparadas entre si. Analisando o resultado entre Cumbu e Abaetetuba, verifica-se que o primeiro causa uma redução de aproximadamente 4,2% na resposta. Resultado similar foi encontrado entre Ilha das Onças e Cumbu, contudo, a bebida obtida a partir dos frutos de Ilha das Onças foi a que contribuiu com o menor percentual na resposta (~ 9,15%) quando comparada com Abaetetuba.

Os resultados experimentais do teor de lipídios em relação a matéria seca obtida com o despolpamento padrão da bebida, foram: $52,00 \pm 0,03$, $53,9 \pm 1,04$ e $49,00 \pm 0,19\%$, respectivamente para Abaetetuba, Cumbu e Ilha das Onças, os quais diferem estatisticamente entre si a nível de 5%, e poderia influenciar na resposta, uma vez que, a percentagem de matéria seca encontrada no sobrenadante poderia aumentar com o aumento desse componente, pois seria retirado no processo de centrifugação devido a diferença de densidade em relação aos outros constituintes da emulsão.

Outro fator que também poderia contribuir para a diferença significativa na resposta em relação as procedências, seria a composição do emulsificante (proteínas e/ou fosfolipídios) pois, para o teor de proteínas Rogez (2000) evidenciou variações significativas ($p < 0,05$) entre touceiras, sugerindo que algumas palmeiras apresentam uma propensão em fixar mais compostos nitrogenados, que outras nas mesmas condições de crescimento. Logo, para as procedências diferentes essa composição também varia.

Devido não haver diferença significativa sobre a percentagem de matéria seca encontrada no sobrenadante nos ensaios com velocidade de rotação acima de 3000g para o planejamento adotado, um segundo experimento foi realizado com velocidades que variaram de 1500g à 6000g, a fim de determinar a velocidade crítica de quebra da emulsão. O tempo de rotação foi de 1 (um) minuto para todos os ensaios, uma vez que este não influenciou na resposta a partir desse valor.

De acordo com a Figura 11, a percentagem de matéria seca no sobrenadante aumenta tanto para Abaetetuba quanto para Cumbu em função da velocidade de rotação até 3000g, permanecendo estável acima deste valor com um valor médio de 20%; sugerindo que as condições de centrifugação aplicadas, principalmente a velocidade foram suficientes para romper a camada interfacial das gotículas de lipídios desestabilizando-as. Todavia, percebe-se claramente que o percentual de matéria seca encontrada no sobrenadante é maior no açaí de Abaetetuba, reforçando a importância da variável procedência.

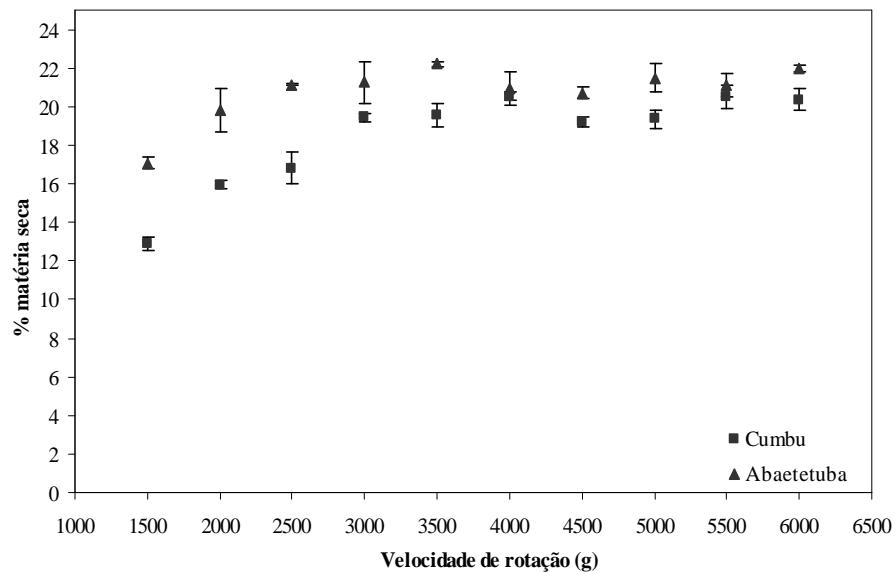


Figura 11. Evolução da matéria seca encontrada no sobrenadante em função da velocidade de rotação.

O teor de lipídios de $52,3 \pm 0,31\%$ e $51,45 \pm 2,14\%$ encontrado, respectivamente, para Abaetetuba e Cumbu, em relação a matéria seca inicial de 12%, padronizada durante o despulpamento do açaí, associada a uma matéria seca encontrada no sobrenadante das emulsões após centrifugação, correspondendo a aproximadamente 20%, ocasionou uma remoção de lipídios em torno de 38%.

Estes resultados sugerem que seria possível obter um açaí parcialmente desengordurado (com 38% de gordura a menos) processando o mesmo numa centrífuga do tipo a pratos cuja velocidade mínima seria de 3000g e o tempo de escoamento de 1 minuto.

4.2 Influência da concentração de cálcio na estabilidade da emulsão

A influência da concentração de cloreto de cálcio (8 a 108 mM) sobre o diâmetro médio da gotícula, determinado por espectrofotometria e sobre a desestabilização da emulsão por centrifugação foi estudada. Nesta etapa foram usados frutos da Ilha do Cumbu, os quais passaram por amolecimento padrão (45 °C/1h) e amolecimento a temperatura alternada (0 e 50 °C/1h e 20 min), seguido de despolpamento padrão para obtenção de uma bebida com 12% de matéria seca.

O objetivo dos diferentes tipos de amolecimento foi provocar com a diminuição da temperatura, a formação de cristais nos lipídios presentes ainda nos frutos (parte carnosa) promovendo a coalescência e o aumento das gotículas antes da formação da emulsão durante o despolpamento.

4.2.1 Diâmetro da gotícula de lipídio

Imediatamente após o preparo da emulsão, o diâmetro das gotículas de lipídio foi determinado. Verifica-se na Figura 12 que, para as concentrações² testadas não houve diferença significativa em nível de 5%, entre o diâmetro médio das amostras para os dois tipos de amolecimento, com exceção da concentração de 18 mM, no amolecimento padrão.

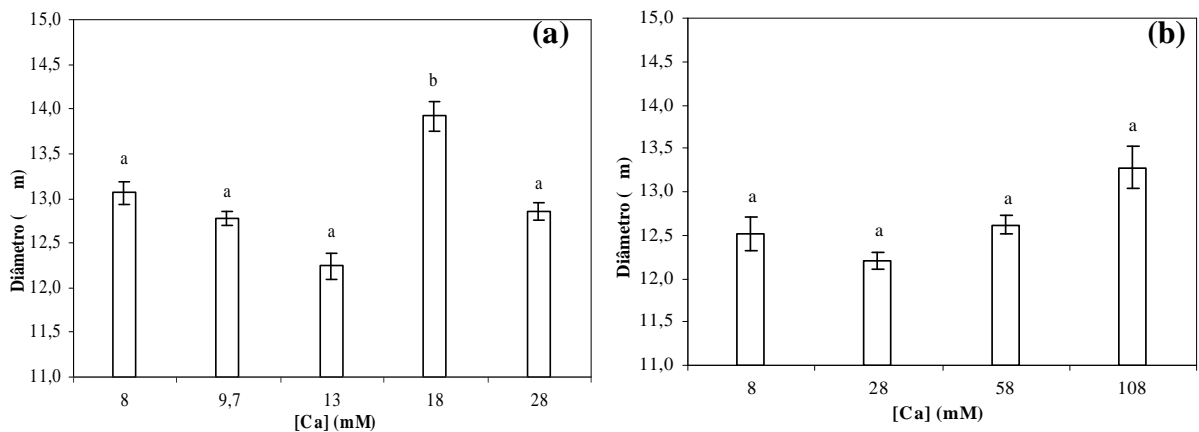


Figura 12. Diâmetro da gotícula de lipídio em emulsões de açaí contendo diferentes concentrações de CaCl_2 , (a) para frutos que sofreram amolecimento padrão ou (b) amolecimento alternado. Médias indicadas por letras iguais na coluna não diferem significativamente entre si para um teste t para $p < 0,05$. As amostras com 8 mM são de emulsões de açaí sem acréscimo de CaCl_2 .

² As concentrações utilizadas nas emulsões que sofreram amolecimento a temperatura alternada foram diferentes, na intenção de verificar se concentrações elevadas provocariam aumentos significativos sobre o diâmetro da gotícula.

De acordo com Duarte *et al.* (1998) o diâmetro da gotícula de lipídio se relaciona inversamente com a estabilidade das emulsões, e que a adição de sais provoca aumentos importantes no diâmetro da gotícula, contudo, as emulsões de açaí permaneceram estáveis para as diferentes concentrações de CaCl_2 , com uma tendência a agregação apenas na amostra com 18 mM (Figura 13), causando ligeiro aumento no diâmetro médio da gotícula nesta emulsão contendo 8,29 g/L de proteínas e 52,65 g/L de lipídios. Todavia, os diâmetros médios medidos por microscopia (Figura 13) das emulsões não apresentaram diferença significativa entre si.

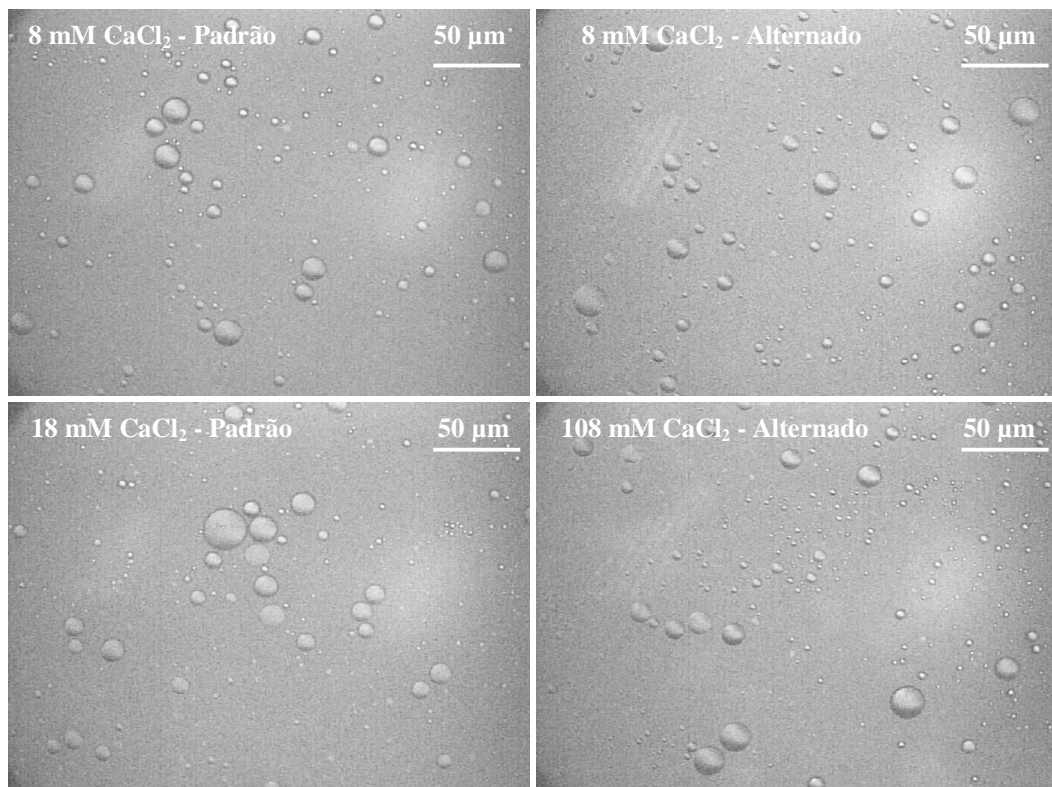


Figura 13. Microfotografias de emulsões de açaí contendo diferentes concentrações de CaCl_2 . Os diâmetros médios das emulsões medidos nas microfotografias das emulsões foram: 8 mM CaCl_2 Padrão = 12,43 μm ; 8 mM CaCl_2 Alternado = 12,17 μm ; 18 mM CaCl_2 Padrão = 12,96 μm ; 108 mM CaCl_2 Alternado = 12,41 μm .

Ogawa, Decker e McClements (2003a) estudando a influência da concentração de cálcio (0; 3; 5; 10; 50; 100; 500 e 1000 mM) em emulsões contendo 5% de óleo de milho e 1% de lecitina, observaram agregação imediata de gotículas a partir de uma concentração de 3 mM, além de aumento imediato no diâmetro da gotícula, alcançando valores de 10 e 80 μm em 3 e 5 mM respectivamente. O valor encontrado na ausência do sal foi de 1 μm . Eles atribuem esses resultados aos efeitos de ligação do Ca^{2+} reduzindo a repulsão eletrostática entre as gotículas de óleo.

Guzey, Kim e McClements (2004) e Dalgleish (1997) também já demonstraram que a utilização de sal em diferentes concentrações causa apreciável aumento da instabilidade da emulsão, promovendo a coalescência e o aumento do diâmetro das gotículas de lipídio.

Os resultados encontrados neste trabalho discordam dos encontrados na literatura, uma vez que Das e Kinsella (1990) e McClements (1999), também afirmam que a adição de sal provoca redução da estabilidade de emulsões O/A, nas quais o agente emulsificante é uma proteína. Isto ocorre, devido nessas emulsões, as gotículas de gordura possuírem carga elétrica resultante dos grupamentos protéicos ionizados, assim, os íons oriundos do sal se depositam em uma dupla camada, uma vez que o sistema necessita estar eletricamente neutro. A adição de quantidade crescente de sal provoca uma redução das forças de repulsão entre as gotículas de gordura, as quais tendem a se aproximar levando à floculação e à perda da estabilidade.

No caso do açaí, pode-se sugerir que durante o despolpamento e conseqüente formação da emulsão, os fosfolipídios, devido sua conformação mais simples, adsorvem primeiro na interface seguido da proteína, formando uma emulsão altamente estável, com suficiente repulsão eletrostática entre as gotículas. Já o cálcio, naturalmente presente no açaí em uma quantidade de 3,09 g de cálcio/1 kg de açaí seco, que corresponde a uma concentração de 8 mM de Ca^{2+} , possivelmente interage via ponte salina entre os fosfolipídios e a proteína (Figura 14) estabilizando a emulsão.

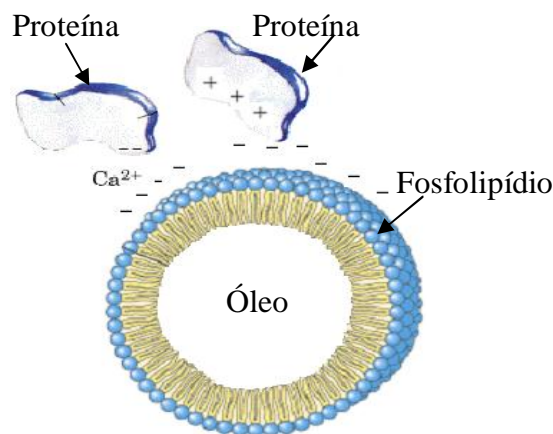


Figura 14. Provável interação proteína-fosfolipídio para manutenção da estabilidade da emulsão do açaí.

Mecanismo semelhante foi observado por Ogawa, Decker e McClements (2003b), onde as emulsões estabilizadas somente por lecitinas foram instáveis a agregação da gotícula. Ao contrário, quando as emulsões foram estabilizadas por lecitinas e em seguida por quitosana, mostraram-se altamente estáveis até 500 mM de CaCl_2 .

4.2.2 Percentual de matéria seca encontrada no sobrenadante

Após o despulpamento dos frutos e adição de sal, as emulsões foram separadas em tubos e centrifugadas a fim de quantificar a remoção da fase oleosa.

As condições de amolecimento padrão e com temperatura alternada também não influenciaram na quantidade de matéria-seca encontrada no sobrenadante e conseqüentemente no desengorduramento do açaí. A percentagem de matéria seca encontrada nas amostras que passaram pelos dois tipos de amolecimento apresentou o mesmo resultado em nível de 5%.

Na Figura 15 são mostrados os resultados de perda de matéria-seca em função de diferentes concentrações de CaCl_2 de amostras de emulsões que passaram por amolecimento padrão. O intervalo de confiança para a matéria seca encontrada no sobrenadante foi de $19,18 \pm 0,59\%$, o que corresponde a uma perda de lipídios em torno de 38% de uma emulsão que apresentava antes da centrifugação 12% de matéria seca, cujo $49,9 \pm 0,88\%$ desta eram lipídios.

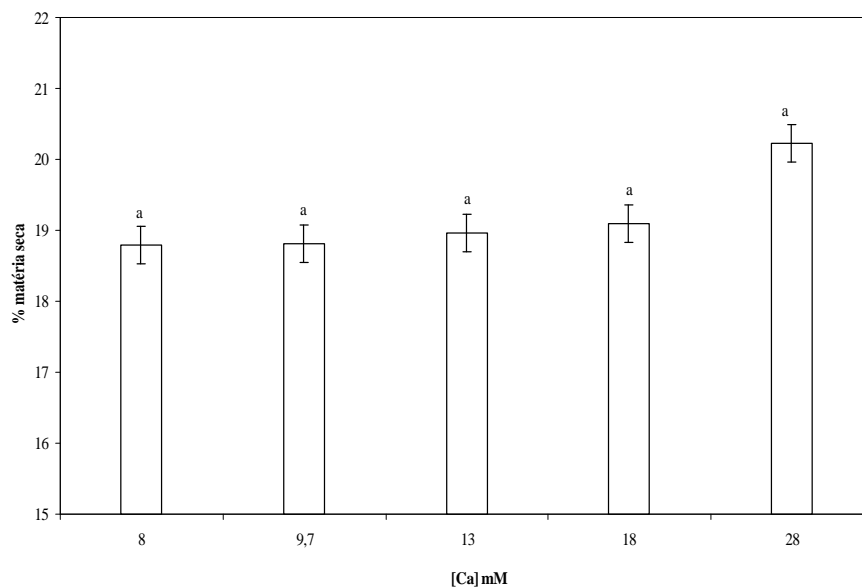


Figura 15. Percentual de matéria seca encontrada no sobrenadante após centrifugação de emulsões que tiveram amolecimento padrão e adição de diferentes concentrações de cloreto de cálcio. Médias indicadas por letras iguais na coluna não diferem significativamente entre si para um teste t para $p < 0,05$.

Boode, Bisperink e Walstra (1991) relatam que os lipídios no estado de cristalização parcial aumentam a instabilidade da emulsão, pois estes podem atravessar a interface da gotícula levando a coalescência (Figura 16).

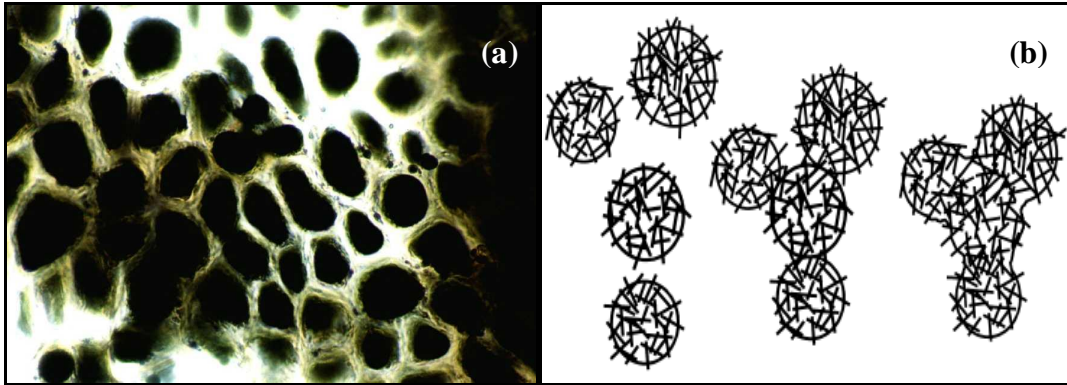


Figura 16. Visualização por microscópio óptico dos lipídios presentes na parte carnosa dos frutos de açaí (corte transversal; 1cm = 20 μ m) (a) e coalescência de gotículas contendo óleo com cristais (b). Fontes: (a) ROGEZ, 2000; (b) ROUSSEAU, 2000.

Quando os lipídios são resfriados o processo torna-se favorável e, quando isso ocorre em ciclos de resfriamento, aquecimento e resfriamento, a cada etapa a temperatura de cristalização do óleo diminui, causando rompimento da gotícula, favorecendo a desestabilização da emulsão (CRAMP *et al.* 2004).

O açaí apresenta em média 30% de ácidos graxos saturados (ROGEZ, 2000) e testes preliminares com óleo de açaí mostraram que de 3 a 0 °C, este encontra-se cristalizado. Logo, a ruptura das gotículas pode ter ocorrido, devido ao estado parcialmente cristalino do óleo durante o amolecimento em temperaturas alternadas, formando gotículas maiores de óleo. Mas, durante o processo de despulpamento dos frutos, possivelmente houve emulsificação desse óleo, uma vez que os resultados não apresentaram diferenças significativas.

Também, deve-se considerar o fato da bebida apresentar elevado percentual em fibras (25,25 % da matéria seca) (ROGEZ, 2000), as quais podem ter formado microsistemas de emulsões durante o despulpamento, reduzindo a velocidade de separação dos lipídios presentes na bebida. Soler *et al.* (1991) observaram que o acréscimo de fibras de coco em emulsões de leite de coco reduziu o nível de separação das fases melhorando a estabilidade do produto.

4.3 Influência do tratamento térmico

O tratamento térmico leva ao aumento da exposição da superfície (grupos hidrofóbicos) e conseqüente flexibilidade das proteínas (KIM; CORNEC; NARSIMHAN, 2005). Acima de 70 °C, as proteínas que estabilizam emulsões, desdobram-se e juntam-se favorecendo o processo de agregação das gotículas de lipídio durante o aquecimento (DICKINSON; PARKINSON, 2004).

Nesta etapa do trabalho utilizou-se frutos da Ilha do Cumbu que foram despulpados através do protocolo padrão, resultando em uma emulsão com 12% de matéria seca, a qual foi submetida a tratamento térmico com e sem a adição de cloreto de cálcio, para avaliar o efeito dessas variáveis sobre o diâmetro da gotícula de lipídio.

Observa-se na Figura 17 que em relação ao tratamento térmico aplicado às emulsões de açaí, as temperaturas testadas não provocaram aumento significativo ($p < 0,05$) do diâmetro médio da gotícula de lipídio segundo o teste t aplicado. Porém, segundo McClements (2004) o tratamento térmico aliado ao uso de cloreto de cálcio (CaCl_2) promove a floculação da gotícula e conseqüentemente melhora o processo de retirada dos lipídios.

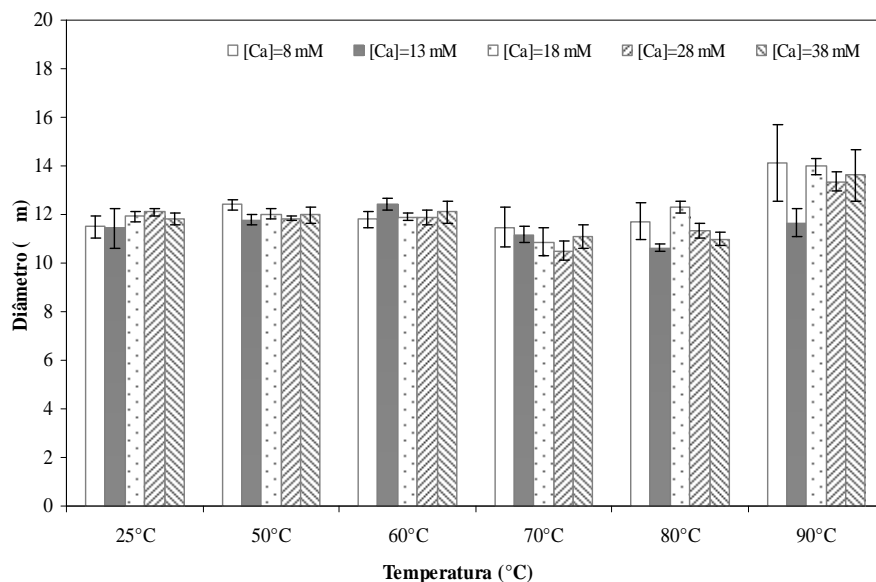


Figura 17. Efeito do tratamento térmico e da concentração de CaCl_2 sobre o diâmetro da gotícula de lipídio de emulsões de açaí.

Onsaard *et al.* (2006) também não evidenciaram o efeito do tratamento térmico (50-90 °C por 30 min), em uma emulsão contendo 10% de óleo de milho e 0,2% de proteína. Eles atribuíram este resultado ao fato de que a repulsão eletrostática entre as proteínas foi suficiente para superar as interações de atração (van der Waals e interações hidrofóbicas), mesmo quando as proteínas desnaturam e aumentam a hidrofobicidade da superfície das gotículas.

É possível que o mesmo tenha ocorrido neste trabalho, pois a concentração de proteínas na emulsão de açaí é 10 vezes maior que a utilizada por Onsaard *et al.* (2006) ou, os agentes emulsificantes na emulsão de açaí não são somente as proteínas, mas também os fosfolipídios³, pois alguns estudos já mostraram que estes competem fortemente com as proteínas na interface óleo-água (DICKINSON; IVESON, 1993; FANG; DALGLEISH, 1996), aumentando significativamente a estabilidade térmica das emulsões (SINGH; SHARMA; TOKLEY, 1992).

Esta competição segundo Araújo (2001), está associada a estrutura da molécula, pois nos fosfolipídios, em razão de as porções hidrofílica e hidrofóbica estarem presentes nas extremidades da molécula, eles não necessitam alterar sua conformação, ao contrário das proteínas, onde a distribuição de grupos hidrofóbicos e hidrofílicos na superfície e a rigidez estrutural da molécula limitam sua adsorção e orientação.

³ A determinação dos fosfolipídios no açaí não foi efetuada devido os reagentes necessários não chegarem a tempo da realização das análises, entretanto, serão feitas para a posterior publicação deste trabalho.

4.4 Influência do pH e do tratamento térmico

Emulsões de açaí da Ilha do Cumbu com 12% de matéria seca tiveram seus pHs ajustados e foram submetidas a tratamentos térmicos em diferentes temperaturas, para verificar o efeito dessas variáveis sobre a estabilidade da emulsão através do diâmetro da gotícula de lipídio. As emulsões continham $8,48 \pm 1,6$ g/L de proteínas e $46,09 \pm 0,32$ g/L de lipídios.

O pH da emulsão determina a ionização dos grupos na superfície da gotícula de lipídio e desse modo, a densidade de carga que pode induzir alterações na espessura da camada interfacial, aumentando ou diminuindo a estabilidade da gotícula à agregação (GUZEY; MCCLEMENTS, 2006).

À temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$) a média do diâmetro foi relativamente constante em todos os valores de pH, com um valor máximo ($d = 15,4 \pm 1,5\text{ }\mu\text{m}$) no $\text{pH} = 7,5$ (Figura 18), indicando que houve agregação das gotículas, enquanto que em valores de pH abaixo deste, a emulsão foi estável. Este resultado possivelmente pode ser atribuído a suficiente repulsão eletrostática entre as gotículas, prevenindo a agregação das mesmas. Por outro lado, em $\text{pH} = 7,5$ esta repulsão foi insuficiente para superar a atração de van der Waals e as interações hidrofóbicas (ONSAARD, *et al.* 2006; MOREAU, *et al.* 2003).

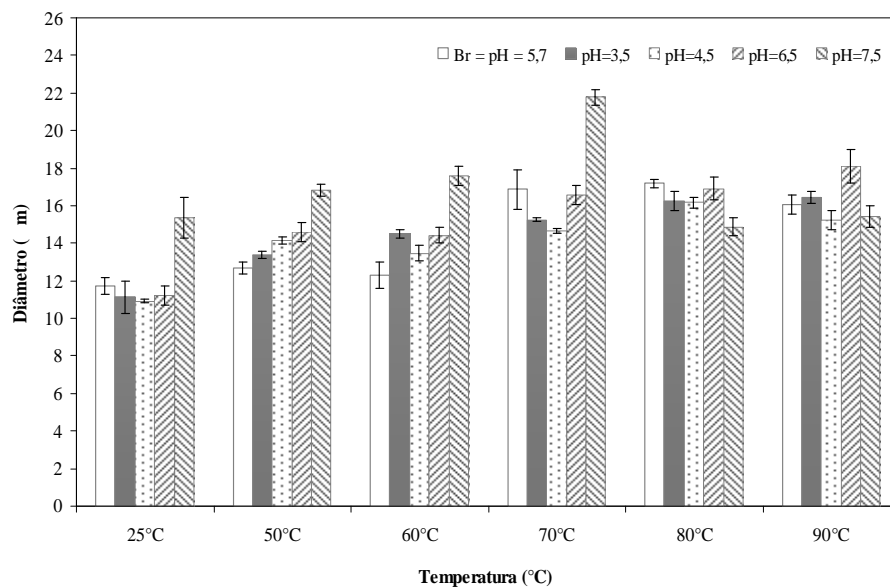


Figura 18. Efeito do pH e do tratamento térmico sobre o diâmetro da gotícula de lipídio de emulsões de açaí. Br = Branco.

Sabe-se que as proteínas são positivamente carregadas em pH abaixo do ponto isoelétrico (pI) e negativamente carregadas acima do seu pI, o que justificaria o ligeiro aumento de diâmetro da gotícula a partir do pH 4,5, pois em valores acima do pI os emulsificantes (fosfolipídios e proteínas) estariam carregados negativamente, não havendo atração entre eles. Neste caso, há uma considerável quantidade de proteínas não adsorvidas na fase aquosa promovendo a agregação, como foi observado no pH = 7,5. No item a seguir nota-se também que o índice de atividade emulsificante foi menor para este valor de pH.

Assim, pode-se presumir que em pH abaixo do pI da proteína, a gotícula da emulsão com os fosfolipídios e as proteínas estão com cargas contrárias, logo, podem ser eletricamente atraídos para a superfície das gotículas da emulsão e serem adsorvidos mas não gerarem força suficiente para a repulsão eletrostática provocando a agregação.

Já em pH intermediário observa-se baixa agregação, o que sugere interações entre fosfolipídios e proteínas (Figura 14), e que a adsorção dos fosfolipídios na superfície da proteína que estabiliza a emulsão aumentou neste intervalo de pH. Este efeito pode ser atribuído ao fato de que a adsorção dos fosfolipídios aumenta significativamente a carga elétrica nas gotículas.

Estas interações entre fosfolipídios e proteínas ocorrem por meio de forças eletrostáticas, envolvendo o grupo fosfato negativamente carregado e os grupamentos da proteína positivamente carregados, como lisil e guanidil; ou pelo envolvimento de grupos carregados positivamente do fosfolipídio (colina) com grupos negativos, como asparatil (ARAÚJO, 2001).

Em relação ao tratamento térmico aplicado, o teste *t* de *student* mostrou que para todos os valores de pH houve aumento significativo ($p < 0,05$) do diâmetro médio da gotícula, o que pode ser atribuído a alterações na conformação (desnaturação) da proteína provocada pelo aumento da temperatura. A 70 °C observa-se que as proteínas que atuam como emulsificantes do açaí já se encontram desnaturadas, pois a partir desta temperatura o diâmetro da gotícula não apresenta diferença significativa, em particular para o pH 7,5, que apresentou um valor máximo em 70 °C, retornando ao valor inicial a 90 °C.

4.5 Influência do pH sobre o índice de atividade emulsificante (IAE) e estabilidade da emulsão (EE)

Nesta etapa do trabalho utilizaram-se emulsões de açaí obtidas através do protocolo padrão, com 12% de matéria seca que tiveram seus pH ajustados e posteriormente foram avaliadas quanto suas propriedades emulsificantes através do índice de atividade emulsificante e estabilidade da emulsão.

Levando-se em conta que o IAE mede a capacidade da proteína permanecer na interface óleo-água, logo após a formação da emulsão (MANGINO, 1994), a baixa solubilidade poderia dificultar a passagem das proteínas emulsificantes da bebida para a fase aquosa, o que iria contribuir para a sua fixação nesta interface, elevando o valor de IAE.

Como apresentado na Figura 19, os valores do IAE variaram em função do pH, sendo máximo em pH = 4,5, diminuindo com o aumento do pH, atingindo um mínimo em pH = 7,5.

Este mesmo comportamento foi observado por Duarte *et al.* (1998) para a caseína bovina, que apresentou um elevado valor de IAE, na faixa de pH de 3,0 a 5,0, quando sua solubilidade foi praticamente nula. Were, Hettiarachchy e Kalapathy, (1997) também observaram baixa solubilidade de isolados protéicos em pH na região do pI, aumentando nos valores de pH acima e abaixo deste valor.

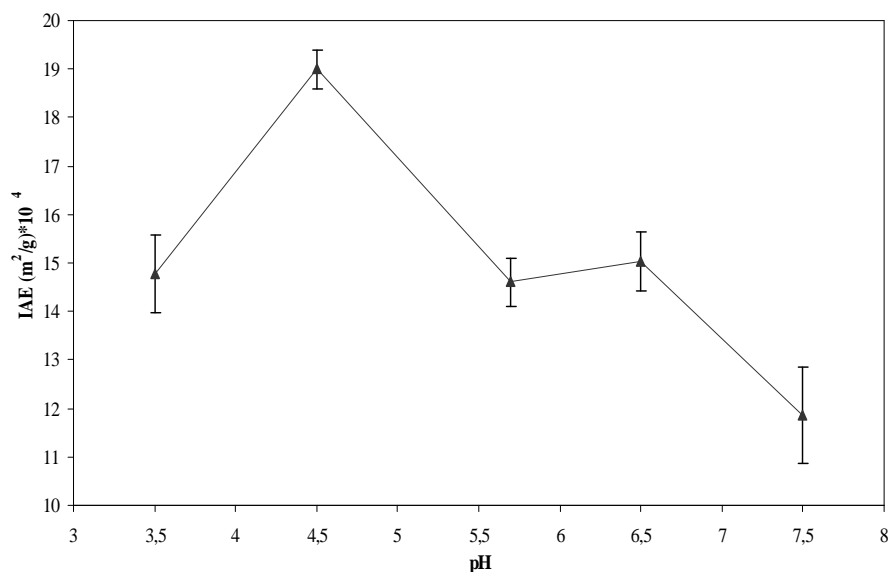


Figura 19. Efeito do pH sobre o índice de atividade emulsificante de emulsões de açaí. Os valores representam médias de duplicatas.

A ocorrência de baixa solubilidade próxima à região do pI é devido principalmente à falta de repulsão eletrostática, que promove agregação e precipitação via interações hidrofóbicas (DAMODARAN, 1996 *apud* TAKEITI; SOUZA; NETTO, 2004).

O pH afeta a densidade de cargas e o balanço eletrostático intra e intermolecular, modificando a habilidade da proteína em participar das interações hidro e lipofílicas. O aumento da densidade de cargas da proteína em pHs afastados da região do ponto isoelétrico favorece as interações proteína-água, resultando no aumento das propriedades de hidratação da proteína (ELIZALDE; BARTHOLOMAI; PILOSOF, 1996), o que é benéfico para a desestabilidade da emulsão.

Ressalta-se ainda o fato de que não foram encontrados na literatura trabalhos sobre as proteínas presentes na bebida açaí. Neste caso, os resultados obtidos podem ser indicativos do ponto isoelétrico (pI) das proteínas que atuam como emulsificantes no açaí, sugerindo o pH em torno de 4,5 como pI dessas proteínas e o pH = 7,5 onde o IAE foi mínimo, como ótimo para provocar a desestabilidade da emulsão.

Quanto ao efeito do pH sobre a estabilidade das emulsões de açaí, observa-se na Figura 20 um pequeno aumento até o pH = 6,5, retornando aos valores iniciais no pH = 7,5. Em geral, é de se esperar um valor elevado para a EE de proteínas em valores de pH próximos ao pI, uma vez que nesta faixa de pH, as proteínas são capazes de formar filmes interfaciais mais coesos e mais viscosos, o que é benéfico para a estabilidade da emulsões. Entretanto, em alguns casos, a EE pode ser mais elevada em uma faixa de pH distante do ponto isoelétrico (MANGINO, 1994).

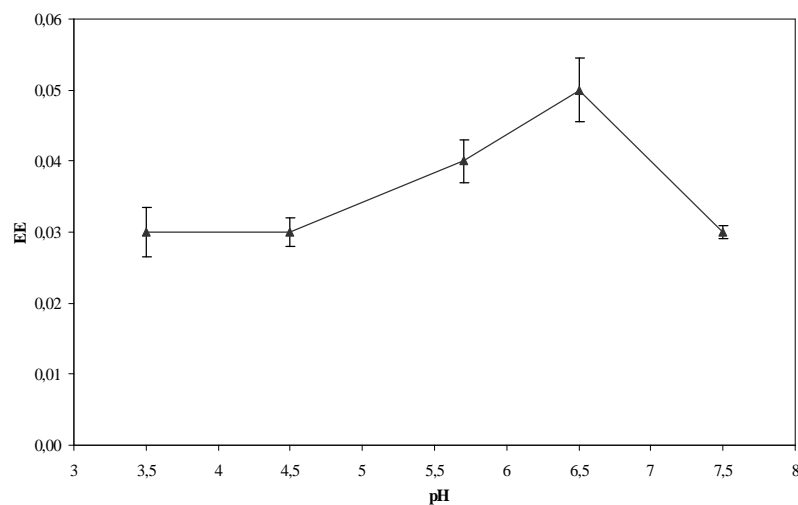


Figura 20. Efeito do pH sobre a estabilidade da emulsão de açaí. Os valores representam médias de duplicatas.

De acordo com Das e Kinsella (1990) isso depende do equipamento utilizado para formar a emulsão, uma vez que um maior fornecimento de energia pode levar a adsorção de moléculas mais carregadas, aumentando-se assim a repulsão de cargas e, portanto, a estabilidade da emulsão. Segundo estes autores, isto poderia ser explicado pela falta de padronização da metodologia empregada entre os laboratórios, além da utilização de diferentes concentrações de proteínas nos estudos, dando origem a filmes protéicos interfaciais com propriedades diversas.

Este fato pode ter ocorrido neste trabalho pois, o processo de obtenção da emulsão do açaí se dá por despolpamento mecânico dos frutos, o que poderia estar gerando este resultado distinto do item anterior (IAE), o qual indicou o pH = 4,5 como provável ponto isoelétrico das proteínas emulsificantes do açaí. Além disso, observa-se na Figura 19 que os valores de estabilidade da emulsão em função do pH são muito próximos, logo não pode-se considerar que a mudança de pH contribuiu para a desestabilização da emulsão.

Outro fator importante é que, apesar de os dados obtidos indicarem que a estabilidade foi máxima em pH 6,5, foi no pH 7,5 onde se observou maior percentual de matéria seca no sobrenadante após centrifugação das amostras, ocasionando uma retirada de 24% de matéria seca do sobrenadante, enquanto nos outros pHs a média foi de 20%, correspondendo a uma diferença de 10% na perda de lipídios para uma emulsão que apresentava inicialmente 12% de matéria seca e $41,9 \pm 0,32\%$ de lipídios.

Neste caso, com os resultados encontrados para a estabilidade da emulsão de açaí, pode-se recomendar o pH 7,5 para se retirar os lipídios do açaí pelo processo de centrifugação, uma vez que houve aumento no diâmetro da gotícula e maior retirada de lipídios.

5. CONCLUSÃO

A partir dos principais resultados encontrados neste trabalho pode-se fazer as seguintes conclusões:

- O processo de separação por centrifugação a temperatura ambiente em tubos eppendorff mostrou-se eficiente na retirada de em média 38% dos lipídios da emulsão do açaí, tendo como parâmetros otimizados a velocidade de 3000g durante 1 minuto, para qualquer uma das procedências estudadas neste trabalho, caracterizando a bebida tratada nestas condições como parcialmente desengordurada.

- A adição de diferentes concentrações de cloreto de cálcio não influenciou no aumento do diâmetro médio das gotículas de lipídio, logo na desestabilidade da emulsão.

- A aplicação do tratamento térmico também não afetou a estabilidade das emulsões *com e sem* cloreto de cálcio.

- O pH apresentou maior impacto sobre a agregação das gotículas durante o tratamento térmico, apresentando elevada instabilidade no pH 7,5, verificada através do diâmetro da gotícula e do índice de atividade emulsificante.

- A influência do pH sobre as propriedades emulsificantes confirmou que no pH 7,5 a emulsão do açaí foi menos estável, indicando este como adequado para o desengorduramento através da centrifugação.

- De modo geral, estes resultados têm importantes conseqüências para o desenvolvimento de açaí parcialmente desengordurado (*light*), pois se conseguiu determinar um dos fatores mais relevantes na estabilidade da emulsão: o pH, que neste caso foi de 7,5, além de otimizar as melhores condições de separação por centrifugação.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGBOOLA, S. O.; DALGLEISH, D. G. Calcium-induced destabilization of oil-in-water emulsions stabilized by caseinate or by β -lactoglobulin. *Journal of Food Science*, v. 60, p. 399-404, 1995.
- AGBOOLA, S. O.; SINGH, H.; MUNRO, P.; D.G.; SINGH, A.M. Stability of emulsions formed using whey protein hydrolysate: effects of lecithin addition and retorting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 46, p. 1814-1819, 1998.
- AOAC. **Official methods of analysis of association of official analytical chemists.** Washington DC, 1997.
- ARAÚJO, J.M.A. **Química de Alimentos ó Teoria e Prática.** 2ª ed Viçosa: UFV, 2001.
- BOODE, K.; BISPERINK, C.; WALSTRA, P. Destabilization of o/w emulsions containing fat crystals by temperature cycling. *Colloids and Surfaces*, v. 61, p. 55-74, 1991.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa Nº 01, de 7 de janeiro de 2000. Disponível em: < <http://www.agricultura.com.br/>>. Acesso em: 19 de Jul. 2006.
- BROOKSBANK, D. V.; DAVIDSON, C. M.; HORNE, D. S.; LEAVER, J. Influence of electrostatic interactions on β -casein layers adsorbed on polystyrene latices. *Journal of the Chemical Society*, v. 89, p. 3419-3425, 1993.
- CHEN, G.; TAO, D. An experimental study of stability of oil - water emulsion. *Fuel Processing Technology*, v. 86, p. 499-508, 2004.
- CHOBERT, J.M.; BERTRAND-HARB, C.; NICHOLAS, M.G.; Soluble and emulsifying properties of caseins and whey proteins modified enzymatically by trypsin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 36, p. 883-892, 1988.
- CLAESSON, P.M.; BLOMBERG, E.; POPTOSHEV, E. Surface forces and emulsion stability. In: FRIBERG, S.; LARSSON, K.; SJOBLOM, J., *Food Emulsions*, 4ª ed., 2004. Disponível em: < <http://www.books.google.com/>>. Acesso em: 26 de Jun. 2006.
- CORREDIG, M.; DALGLEISH, D. G. A Differential microcalorimetric study of whey proteins and their behavior in oil-in-water emulsions. *Colloids and Surfaces*, v. 4, p. 411-422, 1995.

CRAMP, G.L.; DOCKING, A.M.; GHOSH, S.; COUPLAND, J.N. On the stability of oil-in-water emulsions to freezing. *Food Hydrocolloids*. V. 18, p. 899-905, 2004.

DALGLEISH, D.G. Adsorption of protein and the stability of emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, v. 8, 1997.

DALGLEISH, D.G. Food emulsions ó Their structures and structure-forming properties. *Food Hydrocolloids*. v. 20, p. 415-422, 2006.

DAMODARAN, S. Amino acids, peptides, and protein. In: FENNEMA, O. R. (Ed.) *Food Chemistry*, 3rd. New York: Marcel Dekker Inc., p. 373, 1996.

DANA, B. O. **Manual de Laboratório de Ciência dos Alimentos** ó Editora Acríbia, 1987.

DARLING, D.F.; BIRKETT, R.J. Foods colloids in practice. In **Food emulsions and foams**. London: Royal Society of Chemistry, 1987. Disponível em: <<http://www.books.google.com/>>. Acesso em: 26 de Jun. 2006.

DAS, K.P.; KINSELLA, J.E. Stability of Food Emulsions: Physicochemical role of protein and non protein emulsifiers. *Advances in Food and Nutritional Research*. v. 34, p. 81-129, 1990.

DEL COLLE, R.; LONGO E.; FONTES S.R.; Demulsification of water/sunflower oil emulsions by a tangential filtration process using chemically impregnated ceramic tubes. *Journal of Membrane Science*, v. 289, p. 58 ó 66, 2006.

DEPREE, J.A.; SAVAGE, G.P. Physical and flavour stability of mayonnaise. *Trends in Food Science and Technology*, v. 12, p. 157-163, 2001.

DICKINSON, E.; DAVIES, E. Influence of ionic calcium on stability of sodium caseinate emulsions. *Colloids and Surfaces*, v. 12, p. 203-212, 1999.

DICKINSON, E.; IVESON, G. Adsorbed films of β -lactoglobulin + lecithin at the hydrocarbon- water and triglyceride-water interfaces. *Food Hydrocolloids*, v. 6, p. 533-541, 1993.

DICKINSON, E.; PARKINSON, E.L. Heat-induced aggregation of milk protein-stabilized emulsions: Sensitivity to processing and composition. *International Dairy Journal*, v. 14, p. 635-645, 2004.

DICKINSON, E.; STRAINSBY, G. **Colloids in Foods**. London: Applied Science. 1982. Disponível em: < <http://www.books.google.com/>>. Acesso em: 6 de mar. 2006.

DUARTE, A.J.; CARREIRA, R.L.; JUNQUEIRA, R.G.; COELHO, J.V.; SILVESTRE, M.P.C. Propriedades emulsificantes e solubilidade da caseína bovina e de seus hidrolisados trópticos: Efeito do pH e do tempo de hidrólise. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 18, nº 3, 1998.

ELIZALDE, B.E.; BARTHOLOMAI, G.B.; PILOSOFF, A.M.R. The effect of pH on the relationship between hydrophilic/lipophilic characteristics and emulsification properties of soy proteins. *Food Science and Technology*, v. 29, p. 334-339, 1996.

EMBRAPA. **Embrapa Amazônia Oriental** - Sistemas de produção, 04, Versão eletrônica, Dez./2005. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Acai/SistemaProducaoAcai/index.htm>.

FANG, Y.; DALGLEISH, D. G. Competitive adsorption between dioleoylphosphatidylcholine and sodium caseinate on oil-water Interfaces. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 44, p. 59-64, 1996.

FENNEMA, R. O. **Química de los alimentos**, Editora Acribia, Zaragoza, 1993.

FONSECA, L. C.; CORRÊA, N. C. R.; GARROTE-FILHO, M. S.; CUNHA, C. C.; PENHA-SILVA, N. Efeito da composição do solvente sobre a estabilidade de proteínas em soluções aquosas, *Química Nova*, v. 29, São Paulo, 2006.

GOFF, H. D.; LIBOFF, M.; JORDAN, W. K.; KINSELLA, J. The Effects of polysorbate 80 on the fat emulsion in ice cream mix: Evidence from transmission electron microscope studies. *Food Microstructure*, v. 6, p. 193-198, 1987.

GUZEY, D.; KIM, H.J.; MCCLEMENTS, D.J. Factors influencing the production of o/w emulsions stabilized by α -lactoglobulin-pectin membranes. *Food Hydrocolloids*, v. 18, p. 967-975, 2004.

GUZEY, D.; MCCLEMENTS, D.J. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. *Advances in Colloid and Interface Science*, p. 227-248, 2006.

HUNT, J.; DALGLEISH, D. G. Adsorption behavior of whey protein isolate and caseinate in soya oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, v. 8, p. 175-187, 1994.

JULIEN, J. P.; NADEAU, J. P.; DUMAIS, R. La Fondation de Technologie Laitière du Québec, 1984.

KEOWMANEECHAI, E.; MCCLEMENTS, D.J. Effect of CaCl₂ and KCl on physicochemical properties of model nutritional beverages based on whey protein stabilized emulsions. *Journal of Food Science*, v. 67, p. 665-671, 2002.

KIM, D.A.; CORNEC M.; NARSIMHAN, G. Effect of Thermal Treatment on Interfacial Properties of β -lactoglobulin. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 285, p. 100-109, 2005.

KIM, H.J.; DECHER, E.A.; MCCLEMENTS, D.J. Role of postadsorption conformation changes of beta-lactoglobulin on its ability to stabilize oil droplets against flocculation during heating at neutral pH. *Langmuir*, v. 18, p. 7577-7583, 2002.

KROG, N. **Food emulsifiers and their chemical and physical properties.** Food emulsions. 3ed, New York: Marcel Dekker, 1997.

LUBRANO, C.; ROBIN, J.R.; KHAIAT, A. Composition en acides gras, stérols et tocophérols d'huiles de pulpe de fruits de six espèces de palmiers de Guyane, *Oléagineux*. v. 42, p. 59-64, 1994.

MANGINO, M.E.; **Protein interactions in emulsions: Protein-lipid interactions.** In HETTIARACHCHY, N.S.; ZIEGLER, G.R. (Ed). Protein functionality in food systems. New York: Marcel Deckker, p. 147-173, 1994.

MCCLEMENTS, D. J.; DEMETRIADES, K. An integrated approach to the development of reduced-fat food emulsions. *Review of Food Science and Technology*, v. 38, p. 511-536, 1998.

MCCLEMENTS, D.J. *Food Emulsions: Principles, practice and techniques.* Boca Raton, Florida, 1999. Disponível em: < <http://www.books.google.com/>>. Acesso em: 2 de set. 2006.

MCCLEMENTS, D.J. Protein - stabilized emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, v. 9, p. 305-313, 2004.

MOREAU, L.; KIM, H.J.; DECKER, E.A.; MCCLEMENTS, D.J. Production and characterization of oil-in-water emulsions containing droplets stabilized by β -lactoglobulin-pectin membranes. *Journal of Agricultural and Food chemistry*. v. 51, p. 6622-6617, 2003.

OGAWA, S.; DECKER, E.A.; MCCLEMENTS, D.J. Influence of environmental conditions on the stability of oil in water emulsions containing droplets stabilized by lecithin-chitosan membranes. *Journal of Agricultural and Food chemistry*. v. 51, p. 5522-5527, 2003a.

OGAWA, S.; DECKER, E.A.; MCCLEMENTS, D.J. Production and characterization of O/A emulsions containing cationic droplets stabilized by lecithin-chitosan membranes. *Journal of Agricultural and Food chemistry*. v. 51, p. 2806-2812, 2003b.

ONSAARD, E.; VITTAYANONT, M.; SRIGAM, S.; MCCLEMENTS, D.J. Comparison of properties of oil-in-water emulsion stabilized by coconut cream proteins with those stabilized by whey protein isolate. *Food Research International*. v. 39, p. 78-86, 2006.

ORNELLAS, C. B. D; SILVA, J. G.; SILVESTRE, M.P.C. Efeito da hidrólise trípica sobre as propriedades emulsionantes da globina bovina. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 21(1), p. 51-56, 2001.

PEARCE, K.N.; KINSELLA, J.E. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 26, p. 716-723, 1978.

RANGITH, H.M.P. **Water continuous emulsions**. In Fats in food technology. Boca Raton, CRC press, FL, 2000.

ROGEZ, H, **Açaí: Preparo, composição e melhoramento da conservação**, Belém: EDUFPA, 2000.

ROGEZ, H.; BUXANT, R.; MIGNOLET, E.; GIVRON, C.; PASCAL, S.; RIBEIRO, C.; LARONDELLE, Y. Chemical composition of the edible parts of four typical Amazonian fruits: assai, araca, bacuri, cupuassu. Journée universitaire de recherché en nutrition, Université Catholique de Louvain, Belgique, 1996.

ROGEZ, H.; PASCAL, S.; BUXANT, R.; LOPES, S.Q.; COLSON-CORBISIER, A.M. Identificação dos principais fungos e leveduras presentes na polpa do açaí (*Euterpe oleracea*

Mart.), **XIX Congresso Brasileiro de Microbiologia**, Rio de Janeiro, resumo AL-027, p. 269, 1997.

ROUSSEAU, D. Fat crystals and emulsion stability - A review. ***Food Research International***, v. 33, p. 3-14, 2000.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos Protéicos: Propriedades, degradações e modificações** - livraria Varela, São Paulo, 1996.

SINGH, H.; SHARMA, R.; TOKLEY, R. P. Influence of incorporation of soya lecithin into skim milk powder on the heat stability of recombined evaporated milk. ***Journal Dairy Technology***. v. 47, p. 33-37, 1992.

SINGH, H.; TEMEHANA. M.; HEMAR, Y.; MUNRO, P.A. Interfacial compositions, microstructure and stability of oil-in-water emulsions formed with mixtures of milk proteins and carrageenan: whey protein isolate (WPI). ***Food Hydrocolloids***, v. 17, p. 547-651, 2003.

SOLER, M.P.; VITALI, A.A.; MATARAZZO, A.A.W.; BARUFATI, C.S. Estudo da estabilidade física do leite de coco (*Cocos nucifera, L*) em autoclave rotativa, aplicando-se o método estatístico de superfície de resposta. **Coletânea do ITAL**, Campinas, v. 21(1), p. 285-96, 1991.

STANG, M; KARBSTEIN, H.; SHUBERT, H. Adsorption kinetics of emulsifiers at oil - water interfaces and their effect on mechanical emulsification ***Chemical Engineering and Processing***. v. 33, p. 307, 1994.

STAUFFER, C.E. **Emulsifiers**. Eagen Press: St Paul, MN, 1999.

TAKEITI, C.; SOUZAY. A. S.; NETTO, F. M. Influência do Tratamento Térmico nas Propriedades de Solubilidade e de Emulsificação de Isolados Protéicos de Soja e de seus Hidrolisados Enzimáticos. ***Brazilian Journal of Food Technology***, v. 7, p. 87-101, 2004.

WALSTRA, P. **Disperse Systems: Basic Considerations**. In Food Chemistry, 3rd ed.; FENNEMA, O.R., ed.; dekker: New York, v. 4, chapter 3, 1996.

WERE, L.; HETTIARACHCHY, N. S.; KALAPATHY, U. Modified Soy proteins with improved foaming and water hydration properties. ***Journal of Food Science***, v. 62, p.821-824, 1997.

YE, A; SINGH, H.; Heat stability of oil-in-water emulsions formed with intact or hydrolyzed whey proteins: Influence of polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, v. 20, p. 269-276, 2006.