



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

FAGNER SOUSA DE AGUIAR

AVALIAÇÃO DA FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA DOS FRUTOS DE *EUTERPE*
OLERACEA DURANTE O PERÍODO PÓS-COLHEITA E SUAS POSSÍVEIS
IMPLICAÇÕES SOBRE A ATRAÇÃO DE TRIATOMÍNEOS

BELÉM
2010



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

FAGNER SOUSA DE AGUIAR

AVALIAÇÃO DA FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA DOS FRUTOS DE *EUTERPE*
OLERACEA DURANTE O PERÍODO PÓS-COLHEITA E SUAS POSSÍVEIS
IMPLICAÇÕES SOBRE A ATRAÇÃO DE TRIATOMÍNEOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade
Federal do Pará, como pré-requisito para obtenção do
grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

ORIENTADOR: Prof. Dr. Hervé Louis Ghislain Rogez

BELÉM
2010



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

FAGNER SOUSA DE AGUIAR

AVALIAÇÃO DA FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA DOS FRUTOS DE *EUTERPE*
OLERACEA DURANTE O PERÍODO PÓS-COLHEITA E SUAS POSSÍVEIS
IMPLICAÇÕES SOBRE A ATRAÇÃO DE TRIATOMÍNEOS

DATA DA AVALIAÇÃO: ___/___/___

PARECER DA BANCA: _____

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Hervé Louis Ghislain Rogez (FEA/ITEC/UFPA – Orientador)

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

Prof. Dr. Evaldo Martins da Silva (IEC-Campus Bragança/UFPA–Membro)

Prof. Dr^a. Ana Vânia Carvalho (EMBRAPA/CPATU – Membro Externo)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pela força espiritual durante toda a elaboração deste trabalho.

A toda a minha família pela base estruturada e sólida que me forneceu durante todos esses anos de estudo, principalmente aos meus padrinhos Nilson Pantoja e Rose Cortinhas.

Ao orientador Prof. Dr. Hervé Rogez, mais uma vez, pela oportunidade de realizar mais um passo fundamental na minha qualificação profissional.

Aos membros da banca examinadora: Professores Ana Vânia Carvalho, Rosinelson Pena e Evaldo Martins que deram suas contribuições textuais e/ou analíticas para o melhor desenvolvimento desta dissertação.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro, na forma de bolsa de estudo.

A todos os colegas de laboratório que, de forma direta ou indireta, contribuíram para esta realização, em especial a: Ivonete Quaresma, Aécio Dias, Jonas Mangabeira, Marília Cavalcante, Risaldo Amaral, Ted Maciel, Livia Miyagawa, Verena Rebelo, Socorro Bezerra e Caroline dos Santos.

Aos amigos de Universidade e da vida pelos ótimos momentos vividos nesta fase: Darly, Diego, Anderson, Leandro, Lorena, Carissa, Jonas e Marília. Valeu!

“Nos campos da observação, o acaso favorece apenas as mentes preparadas”

Louis Pasteur

RESUMO

O açazeiro (*Euterpe oleracea*) tornou-se conhecido internacionalmente devido às qualidades nutricionais e antioxidantes da polpa extraída de seu fruto, o açai. Recentemente, no entanto, os surtos da Doença de Chagas foram identificados e relacionados com o consumo desta bebida. Desta forma, este trabalho tem por objetivo avaliar alguns parâmetros da atividade metabólica e o(s) tipo(s) de fermentação(ões) espontânea(s) que ocorre(m) nos frutos de *E. oleracea* no período pós-colheita e relacionar os produtos destes dois processos com dados bibliográficos sobre a atração dos insetos vetores da DC, os triatomíneos. Alguns produtos metabólicos de frutos estão entre os fatores responsáveis por atrair estes insetos vetores, como o calor, o gás carbônico, raios ultravioleta (UV) e odores (ácidos orgânicos). Nesse sentido, duas condições de transporte dos frutos (uma etapa que pode durar até 38 horas) foram simuladas: em caixas de isopor hermeticamente fechadas (interior dos porões dos barcos - ambiente microaeróbico) e em paneiro aberto (exterior dos porões dos barcos, por exemplo, a proa ou a popa dos barcos ou no trapiche, à espera das embarcações - ambientes com maior aeração). Alguns parâmetros físicos, químicos, bioquímicos e microbiológicos foram determinados para avaliar o impacto dessas condições sobre os frutos, como: perda de peso, calor específico dos frutos (c_p), entalpia da fermentação (ΔH), taxa respiratória, compostos fenólicos majoritários (cianidina 3-glicosídeo, cianidina 3-rutinosídeo, homorientina e orientina), carga microbiana fermentativa, açúcares, etanol, ácidos láctico e acético. Os frutos, após a colheita apresentaram um c_p de $3,15 \pm 0,10$ kJ/kg.°C, dissipando quantidades significativas de calor ($\Delta H_{\text{caixas}}=13,54$ kJ/kg; $\Delta H_{\text{paneiro}}=9,76$ kJ/kg); apresentaram uma alta taxa respiratória, com pico após 3 horas (27,02 mL CO₂/kg.h), a perda de massa atingiu a percentagem mais elevada quando transportados em ambientes de maior aeração (1,67% em 27 horas), sendo desprezível em ambiente microaeróbico (<0,30%). Os frutos de açai sofrem três tipos de fermentação espontânea: alcoólica, láctica e acética, principalmente em condições de microaerobiose. Nesta condição houve uma maior taxa de degradação dos compostos fenólicos majoritários, principalmente devido à maior atividade microbiana. Durante a fermentação, as bactérias lácticas foram predominantes, e D-glicose e D-frutose foram, possivelmente, os primeiros substratos a serem consumidos pelos microorganismos. Portanto, estes resultados mostram que há uma alta probabilidade de atração dos insetos vetores da Doença de Chagas pelos fatores estudados, uma vez que o açai dissipa bastante calor e gás carbônico; o ácido láctico está presente devido à fermentação espontânea, e configura como um odor atrativo em simbiose com o gás carbônico; além disso, os frutos possuem altos níveis de compostos fenólicos, que refletem os raios UV para o ambiente. Portanto, como recomendações para as autoridades de saúde, é importante minimizar estes fatores atrativos na cadeia comercial do açai através da aplicação de um programa de Boas Práticas de Fabricação (BPF).

Palavras-chave: *Euterpe oleracea*, fermentação, atração, triatomíneos, BPF.

ABSTRACT

The açai palm (*Euterpe oleracea*) has become internationally known due to the nutritional and antioxidant qualities of the pulp extracted from their fruit, açai. Recently, however, outbreaks of Chagas disease have been identified and related to the consumption of this drink. Thus, this study aims to evaluate some parameters of metabolic activity and the type (s) of fermentation (s) spontaneously (s) that occurs (m) in the fruits of *E. oleracea* in the post-harvest products and relate the products of these two processes with bibliographical data about the attraction of insect vectors of the DC, the *Triatominae*. Some metabolic products of fruits are among the known factors responsible for attracting these insects vectors, such as heat, carbon dioxide, ultraviolet rays (UV) and odors (organic acids). In this sense, two conditions of transport of fruit (a stage that can last up to 38 hours) were simulated in sealed Styrofoam boxes (inside the holds of ships - microaerobic environment) and in open basket (outside the holds of ships, such as the bow or the flesh of the boats or in the pier standby vessels – environment with increased aeration). Some physical, chemical, biochemical and microbiological parameters were determined in order to evaluate the impact of these conditions on the fruit, such as: weight loss, specific heat of fruit (c_p), enthalpy of fermentation (ΔH), respiratory rate, major phenolic compounds (cyanidin 3-glucoside, cyanidin 3-rutinoside, homorientin and orientin), microbial fermentation and sugars, ethanol, lactic and acetic acids contents. The fruits after picking showed c_p of 3.15 ± 0.10 kJ/kg.°C, its dissipated a significant amount of heat ($\Delta H_{\text{boxes}} = 13.54$ kJ/kg; $\Delta H_{\text{basket}} = 9.76$ kJ/kg); they showed a high respiration rate, with peak after 3 hours (27.02 mL CO₂/kg.h); the mass losses attained the highest percentage when transported in environments with higher aeration (1.67% in 27 hours), being negligible in microaerobic environments (<0.30%). The açai fruits undergo three types of spontaneous fermentation: alcoholic, lactic and acetic, mainly in microaerobic condition. In this fermentative condition, there was a higher rate of degradation of the major phenolic compounds, due mainly to higher microbial activity. During fermentation, lactic acid bacteria were predominant, and D-glucose and D-fructose were possibly the first substrates to be consumed by microorganisms. Therefore, these analysed results provided afford to a high probability of attraction of the insect vectors of Chagas disease by the studied factors, since açai fruit dissipate enough heat and carbon dioxide; the lactic acid is present, due to the spontaneous fermentation; moreover, these fruits have high levels of phenolic compounds, which reflect the UV rays to the environment. Therefore, as recommendations for health authorities, it is important to minimize these attractive factors in the comercial chain of açai when applying a Good Manufacturing Practices program.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Palmeiras de <i>Euterpe oleracea</i>	16
Figura 2. Frutos nos cachos do açazeiro (<i>E. oleracea</i>) da variedade <i>Preto</i>	17
Figura 3. A bebida açáí sobre uma peneira para despulpamento manual tradicional e frutos em despulpadeira vertical elétrica.	18
Figura 4. Evolução da temperatura de frutos do açazeiro, de diferentes municípios, no decorrer do tempo pós-colheita.	20
Figura 5. Resultados em percentuais amostrais das análises microbiológicas realizadas nos frutos de açáí.....	22
Figura 6. Cinética de crescimento médio das bactérias e dos coliformes fecais em função do tempo pós-colheita dos frutos.....	22
Figura 7. Cinética média de crescimento dos bolores e leveduras no açáí em função do tempo pós-colheita dos frutos.....	23
Figura 8. Evolução das bactérias mesófilas totais em função do tempo e temperatura de armazenamento dos frutos do açazeiro.....	24
Figura 9. Perda de massa dos frutos do açazeiro em função do tempo e temperatura de armazenamento dos frutos do açazeiro.....	24
Figura 10. Três possíveis vias catabólicas do piruvato formado na glicólise.....	27
Figura 11. Contagem da flora bacteriana fermentativa de picles chinês.	28
Figura 12. Redução de piruvato a lactato pela enzima lactato-desidrogenase.....	31
Figura 13. Via Ebden-Meyrhof utilizada pelas bactérias lácticas homofermentativas e via da 6-fosfogluconato/fosfocetolase utilizada pelas bactérias lácticas heterofermentativas.....	32
Figura 14. Formação de ácido acético a partir de etanol por <i>Acetobacter aceti</i>	35

Figura 15. Principais espécies de triatomíneos capturadas e identificadas na Amazônia Brasileira	37
Figura 16. <i>Taraxacum vulgare</i> (Asteraceae) fotografada com objetiva normal e com objetiva que destaca a radiação UV.....	39
Figura 17. Espectro eletromagnético	40
Figura 18. As duas formas de acondicionamento dos frutos de <i>E. oleracea</i> neste estudo: em caixas de isopor fechadas e em paneiro aberto, simulando as condições de transporte dos frutos: dentro e fora dos porões de barcos, respectivamente.	46
Figura 19. Aparato para medir a concentração de O ₂ e CO ₂ no interior das caixas de isopor	48
Figura 20. Acompanhamento da perda de massa dos frutos durante a fermentação.	49
Figura 21. Evolução da temperatura dos frutos de <i>E. oleracea</i> acondicionados em caixas fechadas e em paneiro aberto.....	58
Figura 22. Evolução da perda de massa dos frutos de <i>E. oleracea</i> nas duas condições.	59
Figura 23. Taxa respiratória de banana <i>martaman</i> a 20°C	60
Figura 24. Taxa respiratória dos frutos de <i>E. oleracea</i> e concentração de O ₂ e CO ₂ (%) nas caixas hermeticamente fechadas.....	61
Figura 25. Evolução da carga bacteriana fermentativa dos frutos do açazeiro acondicionados em caixas fechadas e as concentrações de O ₂ e CO ₂	64
Figura 26. Identificação de etanol nas amostras de açaí por cromatografia gasosa.....	66
Figura 27. Identificação de ácido láctico e ácido acético nas amostras de açaí por cromatografia gasosa.	66
Figura 28. Teores dos compostos orgânicos nos frutos de açazeiro acondicionados nas caixas de isopor fechadas.	67

Figura 29. Teores dos compostos orgânicos nos frutos de açazeiro acondicionados em paneiro aberto.	67
Figura 30. Produção de ácido acético e ácido láctico durante a fermentação espontânea dos frutos de <i>E. oleracea</i> acondicionados em caixas de isopor fechadas.	68
Figura 31. Produção de ácido acético e láctico relacionados com a perda de massa dos frutos de <i>E. oleracea</i> acondicionados em paneiro aberto.	69
Figura 32. Teores dos compostos fenólicos majoritários dos frutos de <i>E. oleracea</i> acondicionados em caixas de isopor fechadas durante 27 horas.	71
Figura 33. Teores dos compostos fenólicos majoritários dos frutos de <i>E. oleracea</i> acondicionados em paneiro aberto durante 27 horas.	71

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Marcos na história dos alimentos fermentados.....	26
Quadro 2. Mistura de odores sintéticos testados em estudos comportamentais de triatomíneos	44
Quadro 3. Provas bioquímicas realizadas sobre colônias isoladas de açaí inoculado em Ágar MRS	62
Quadro 4. Provas bioquímicas realizadas em colônias isoladas de açaí inoculado em Ágar GYC modificado.	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição nutricional, em base seca, e valor de pH do açaí por 3 autores.....	18
Tabela 2.	Espécies de triatomíneos capturados em assentamentos rurais de Roraima-Brasil, entre Janeiro de 1999 e Fevereiro de 2001.....	41
Tabela 3.	Dados utilizados para a quantificação dos produtos da fermentação por Cromatografia Gasosa (CG).....	54
Tabela 4.	Gradiente da fase móvel estabelecido para análise em CLAE dos compostos fenólicos	55
Tabela 5.	Dados utilizados para a quantificação dos compostos fenólicos.....	56
Tabela 6.	Valores de calor específico (c_p) para os frutos de <i>E. oleracea</i>	57
Tabela 7.	Teste sobre as contagens de bactérias mesófilas e lácticas do açaí.....	61
Tabela 8.	Taxa de recuperação de ácido láctico determinada no açaí.....	65

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1	AÇAÍ	16
2.1.1	Generalidades	16
2.1.2	Cadeia de Comercialização.....	18
2.1.3	Contaminação Microbiana	21
2.2	FERMENTAÇÃO EM MATRIZES ALIMENTÍCIAS.....	25
2.2.1	Contexto Histórico	25
2.2.2	Fermentação em Matrizes Alimentícias de Origem Vegetal	27
2.3	DOENÇA DE CHAGAS.....	35
2.3.1	Generalidades	35
2.3.2	Os Triatomíneos e Fatores de Atração	36
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	46
3.1	MATERIAL	46
3.2	CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS	46
3.3	DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS	47
3.3.1	Calor Específico e Entalpia da Fermentação	47
3.3.2	Taxa Respiratória	48
3.3.3	Perda de Massa	49
3.3.4	Microbiologia	50
3.3.5	Determinação de Açúcares	51
3.3.6	Identificação e Quantificação de Produtos da Fermentação	53
3.4	QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR CLAE	55
3.5	TRATAMENTO ESTATÍSTICO	56
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.1	CALOR ESPECÍFICO DOS FRUTOS E ENTALPIA DA FERMENTAÇÃO.....	57

4.2	PERDA DE MASSA DOS FRUTOS	58
4.3	TAXA RESPIRATÓRIA	59
4.4	MICROBIOLOGIA DOS FRUTOS	61
	4.4.1 Testes de seletividade dos meios de cultura.....	61
	4.4.2 Carga Bacteriana do Açaí.....	63
4.5	DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES E PRODUTOS DA FERMENTAÇÃO	65
	4.5.1 Taxa de Recuperação do Ácido Lático	65
	4.5.2 Resultados Analíticos	65
4.6	QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR CLAE	70
4.7	IMPLICAÇÕES SOBRE UMA POSSÍVEL ATRAÇÃO DE TRIATOMÍNEOS....	73
	4.7.1 Calor Específico dos Frutos e Entalpia da Fermentação.....	73
	4.7.2 Taxa Respiratória	73
	4.7.3 Produtos da Fermentação Espontânea.....	74
	4.7.4 Compostos Fenólicos Majoritários	75
5	CONCLUSÃO	76
	REFERÊNCIAS	78

1 INTRODUÇÃO

Na região Norte do Brasil, os frutos do açazeiro (*Euterpe oleracea*) constituem a base da economia rural nas várzeas de muitos Estados, especialmente o Pará. O açazeiro é uma palmeira encontrada em toda bacia amazônica, sendo particularmente abundante em sua parte oriental. Devido ao seu valor nutritivo (ROGEZ, 2000) e qualidades antioxidantes (PACHECO-PALENCIA, DUNCAN e TALCOTT, 2009; KANG et al., 2010), a polpa extraída dos frutos do açazeiro é largamente consumida em todo o Brasil. Em 2006 a produção de frutos foi de 500.000 toneladas, tendo o consumo da bebida girado em torno de 240.000 toneladas no Pará, 58.000 toneladas no Brasil e 8.000 toneladas no exterior (SANTANA e COSTA, no prelo).

O mercado do açaí começou a ser afetado nos últimos anos devido às ocorrências de surtos de infecção em humanos pelo *Tripanossoma cruzi*, protozoário causador da Doença de Chagas (DC), o qual é encontrado em insetos conhecidos como barbeiros ou triatomíneos (família *Triatominae*), que servem de hospedeiros intermediários (vetores) deste protozoário (IEC, 2007). Tais surtos foram comprovadamente relacionados ao consumo da bebida açaí (VALENTE, 2008). Uma vez que Passos e Guaraldo (2010) demonstraram que o *T. cruzi* sobrevive na polpa de açaí, tanto na temperatura ambiente como a 4°C e, também após congelamento a -20°C, tornou-se importante avaliar os fatores de atração dos triatomíneos pelos frutos de *E. oleracea* durante seu período pós-colheita.

Uma das etapas pós-colheita na cadeia de comercialização do açaí é o transporte, realizado em pequenas embarcações dentro do estuário amazônico, onde há ótimas condições de temperatura, umidade e disponibilidade de nutrientes para o desenvolvimento microbiano. O tempo de transporte até o principal centro de comercialização da região, Belém-PA, pode chegar a 38 horas, segundo Rogez (2000), o que representa mais uma variável importante neste contexto. Dependendo das condições durante o transporte, pode ocorrer fermentação espontânea dos frutos nos porões dos barcos devido à falta de ventilação, causando perdas nutricionais e funcionais do açaí.

Dessa forma, este trabalho tem por objetivo avaliar alguns parâmetros da atividade metabólica e o(s) tipo(s) de fermentação(ões) espontânea(s) que ocorre(m) nos frutos de *E. oleracea* no período pós-colheita e relacionar os produtos destes dois processos com dados bibliográficos sobre a atração dos insetos vetores da DC, os triatomíneos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 AÇAÍ

2.1.1 Generalidades

Euterpe oleracea Martius, conhecido como açazeiro, é uma palmeira encontrada em toda a bacia amazônica, sendo localizado em sua maioria na parte oriental (Pará, Amapá, Amazonas Oriental, Tocantins e Maranhão) (ROCHA et al., 2007). Essa espécie ocorre nos solos de várzea, de terra firme e de igapó. Cresce na forma de touceiras, sendo constituídas por estipes (Figura 1) (CAVALCANTE, 1991).

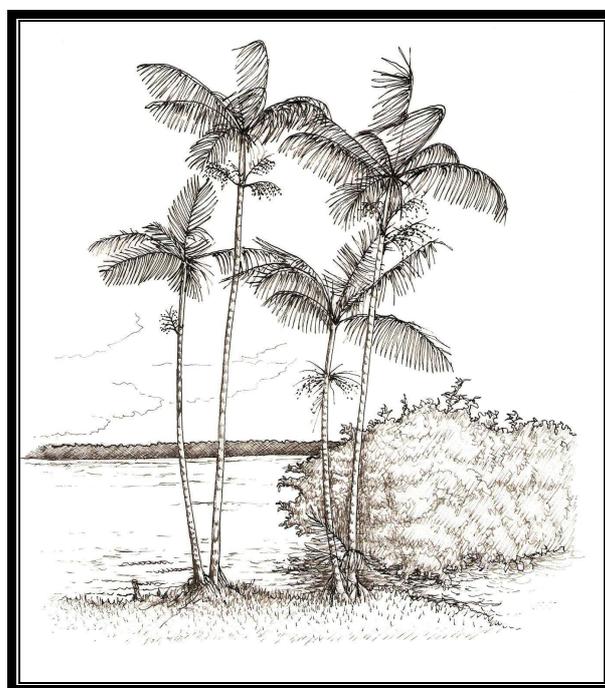


Figura 1. Palmeiras de *Euterpe oleracea*.

O açazeiro frutifica a partir do terceiro ano e a produção máxima ocorre de 5 a 6 anos de idade. Existem dois períodos de produção: a pequena safra, correspondente à estação das chuvas, que ocorre de janeiro a junho, e a grande safra, correspondente à estação mais seca, que corresponde ao período de julho a dezembro. Ressalta-se que o último período de produção mencionado é mais importante, visto que nele os frutos são mais numerosos por cacho e seu nível de maturidade é mais homogêneo (ROGEZ, 2000).

Segundo Nogueira e Homma (1998) e Nascimento e Silva (2005), o açazeiro é uma espécie que tem se destacado economicamente por seu potencial mercadológico de subprodutos, representados, principalmente, pelo palmito e pela bebida extraída do seu fruto, o açai. Pelo lado social, os frutos provenientes dos açazeiros são de fundamental importância para a subsistência de populações ribeirinhas, pois proporcionam alimento de bom valor nutricional e dão vazão à comercialização do excedente familiar.

Os frutos (Figura 2) são produzidos pela palmeira em cachos a partir do terceiro ano. Cada fruto apresenta-se como uma drupa séssil, cujo endocarpo é lenhoso, de forma arredondada, com diâmetro de 1 a 2 cm e massa variando de 0,8 a 2,3 g. Os frutos das variedades *Verde* e *Tinga* são de cor verde antes de amadurecer, e depois de maduros apresentam cor verde pálido. No caso da variedade *Preto*, a mais comum, os frutos se tornam de cor violeta / púrpura (ROGEZ, 2000).



Figura 2. Frutos nos cachos do açazeiro (*E. oleracea*) da variedade *Preto*.

A bebida açai (Figura 3A) é obtida da parte comestível dos frutos amolecidos em água morna, através do atrito dos mesmos com uma peneira de furos largos (despolpamento manual) ou com a superfície e o eixo interno do cilindro e o eixo com palhetas que compõem as despoldadeiras manuais e elétricas (Figura 3B). No caso da última forma de despoldar, os frutos seguem por uma posterior filtração através de uma peneira fina. Todos os processos mencionados envolvem adição de água em quantidade variada (ROGEZ, 2000).

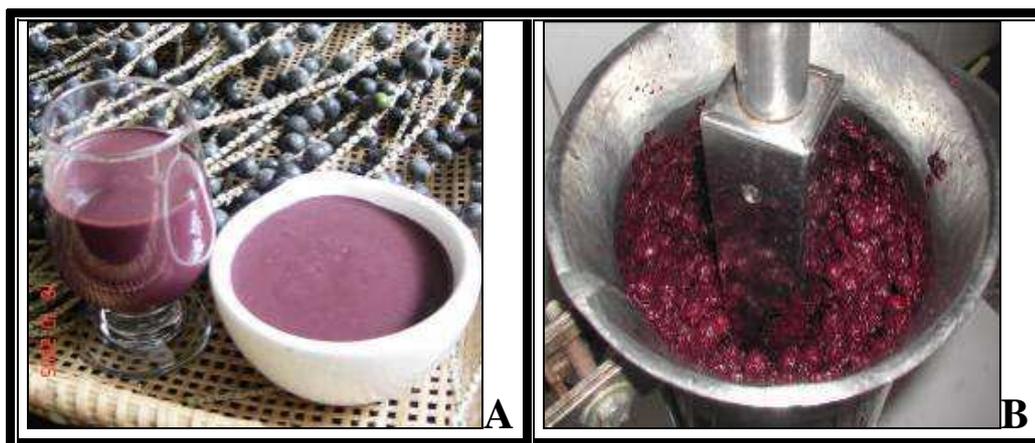


Figura 3. A bebida açai sobre uma peneira para despulpamento manual tradicional (A) e frutos em despulpadeira vertical elétrica (B).

A bebida açai obtida apresenta, em média, a composição apresentada na Tabela 1, a qual é de ótima contribuição nutricional, em função do seu perfil lipídico, quantidades apreciáveis de fibras e baixo teor de açúcares, e constitui-se em meio importante para o crescimento microbiano.

Tabela 1. Composição nutricional, em base seca, e valor de pH do açai por 3 autores.

Determinações	Rogez (2000)	Schauss et al. (2006)	Carvalho (2007)
pH	5,23±0,27	n.d.	4,89±0,0058
Lipídeos (%)	52,64±5,23	32,50	41,02±0,1614
Proteínas (%)	10,05±1,15	8,10	8,76±0,1923
Glicose (%)	1,55±0,50	0,80	n.d.
Frutose (%)	1,36±0,69	0,40	n.d.
Sacarose (%)	0,05±0,09	<0,10	n.d.
Fibras (%)	25,22±6,71	44,20	19,12±0,4407
Cinzas (%)	3,09±0,84	3,80	3,79±0,4402

n.d. – não determinado.

2.1.2 Cadeia de Comercialização

A cor violácea da bebida obtida se deve a altas concentrações de compostos fenólicos, principalmente aos flavonóides da classe das antocianinas, a cianidina 3-glucosídeo e a cianidina 3-rutinosídeo, as quais chegam a representar 30% dos compostos fenólicos do açai (ROGEZ, 2000; PACHECO-PALENCIA, DUNCAN e TALCOTT, 2009). Tais pigmentos e o ótimo perfil lipídico, semelhante ao do azeite de oliva, alavancaram a comercialização desta bebida nos últimos vinte anos, por suas propriedades funcionais, ganhando espaço na mídia nacional e internacional. A partir de então, a demanda do produto aumentou de tal forma que

a produção extrativa não conseguiu crescer em igual proporção, segundo Santana e Costa (no prelo).

Em função da alta demanda, o produtor de açaí começou a ser assediado por grandes capitais estrangeiros e passou a implantar o sistema de monocultura, significando a destruição de parte das árvores nativas. Neste contexto, o homem provavelmente invadiu os abrigos silvestres dos insetos, como por exemplo, os abrigos naturais dos triatomíneos (barbeiros), atraindo-os para dentro de sua própria casa (IEC, 2007), por uma questão de busca de alimento.

Em consequência, o perigo microbiológico se estabeleceu na cadeia produtiva do açaí, requerendo maior atenção com relação à contaminação pelo *T. cruzi*. Bezerra (2009) menciona que o fabricante artesanal de açaí (batedor) deve observar bem as condições do fruto, a limpeza, sua consistência, gosto, cheiro e verificar se não há odores estranhos, como cheiro de óleo, urina de animais e produtos químicos. Também deve verificar se a embalagem (basquetas, paneiros) em que está chegando o fruto de açaí está limpa, em boas condições de uso, e se ela realmente está protegendo o fruto. Salienta-se que os paneiros não são muito bons, pois como são muito vazados e de material vegetal poroso, os frutos de açaí ficam diretamente expostos a todo tipo de contaminação microbiana durante a cadeia de comercialização.

A seguir, apresentam-se as etapas de comercialização do açaí, segundo Rogez (2000):

COLHEITA DOS FRUTOS: A colheita é feita ou no início da manhã (com maior frequência entre 6 e 10 horas porque as temperaturas são mais amenas) ou depois das 15 horas, segundo as necessidades de comercialização; porém jamais nas horas quentes. Os frutos perdem umidade muito mais rapidamente se o debulhamento ocorre nas horas quentes.

DEBULHAMENTO: Ocorre logo após a colheita, geralmente no mesmo local, sendo os frutos acondicionados em paneiros. Os paneiros cheios são levados até o domicílio, e mais tarde, até o trapiche para a comercialização. A duração desses percursos, a pé, pode ser de até uma hora. Em certos casos, os produtores colocam folhas no fundo e em cima do paneiro para preservar os frutos.

Rogez (2000) avaliou a evolução da temperatura no centro de 7 paneiros de frutos no decorrer do tempo pós-colheita (Figura 4). A temperatura aumentou de maneira altamente

significativa ($p < 0,001$) nos 7 lotes de frutos. Esse aumento ocorreu principalmente durante as 15 primeiras horas. Após este tempo, a temperatura oscilou entre 29 e 31°C.

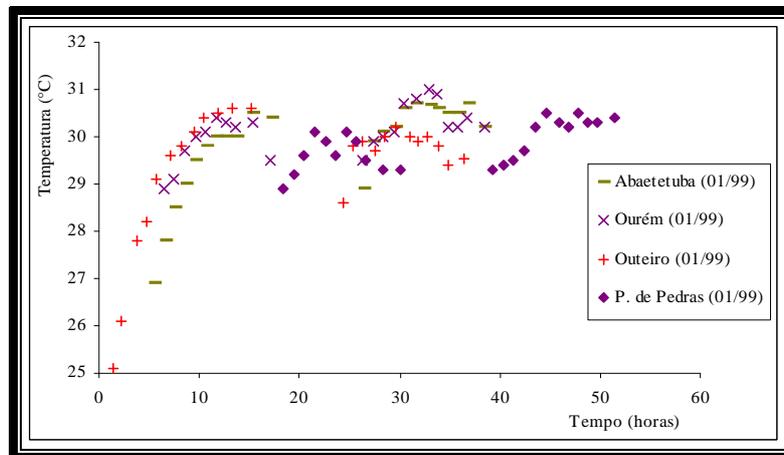


Figura 4. Evolução da temperatura de frutos do açaizeiro, de diferentes municípios, no decorrer do tempo pós-colheita (ROGEZ, 2000).

TRANSPORTE: O meio de transporte, tanto de pessoas quanto de mercadorias, mais freqüente no estuário amazônico é a navegação. Os açaizeiros crescem principalmente em zonas de várzea, por isso os frutos são consequentemente encaminhados para os centros de comercialização dentro e/ou fora dos porões dos barcos. Enquanto que fora há ambiente em aerobiose, dentro dos porões há condições próximas da anaerobiose, ou seja, microaerobiose.

DISTRIBUIÇÃO: quando chega ao centro de comercialização, a grande maioria dos frutos é comercializada para pequenos comerciantes de feiras-livres, barraquinhas de rua, pontos comerciais espalhados pela cidade, que extraem a polpa do fruto com despulpadeiras elétricas tradicionais.

LAVAGEM: os frutos são imersos em água para a retirada das sujidades aderidas aos mesmos.

AMOLECIMENTO: Os frutos são imersos em água para o amolecimento do epicarpo e do mesocarpo, com a finalidade de facilitar o processo de despulpamento. As variáveis deste processo são a temperatura da água e o tempo de imersão. De acordo com os processadores, estas variam conforme a procedência dos frutos e seu grau de maturidade. A água utilizada geralmente está à temperatura ambiente ou na faixa de 40-45°C. O tempo de

amolecimento varia de 10 a 60 minutos e, quanto maior for o grau de maturação, menor será o tempo de imersão dos frutos.

DESPOLPAMENTO: Etapa que envolve o atrito das palhetas da despoldadeira com os frutos e entre os frutos, adição de água e filtração em despoldadeira vertical. O tempo de batida varia entre os comerciantes.

EMBALAGEM: Geralmente a bebida açáí é acondicionada em pequenos sacos plásticos de polietileno de ½, 1 ou 2 L.

2.1.3 Contaminação Microbiana

O açáí, quando não é submetido a processos de conservação, tem a vida de prateleira muito curta, no máximo 12 horas, mesmo sob refrigeração. A sua alta perecibilidade pode estar associada, principalmente, à elevada carga microbiana presente no fruto, causada por condições inadequadas de colheita, acondicionamento, transporte e processamento. Os bolores e as leveduras estão presentes, naturalmente, na superfície dos frutos, enquanto as contaminações por coliformes fecais, salmonelas e outros microrganismos patogênicos são devidos ao manuseio inadequado (ROGEZ, 2000).

Segundo Buxant et al. (1997), na entressafra a contaminação é maior, variando de $3,3 \times 10^6$ a $1,4 \times 10^9$ UFC de bactérias mesófilas totais/g e de $2,4 \times 10^4$ a $8,3 \times 10^6$ UFC de bolores e leveduras/g. Na safra a contaminação de bactérias baixa em quase 100 vezes, mas ainda é alta, entre $1,3 \times 10^6$ e $3,3 \times 10^7$ UFC/g, enquanto que os bolores e as leveduras permanecem na mesma faixa. A presença de coliformes fecais se deu em 20% das amostras, tanto na safra como na entressafra, fato que compromete a qualidade do açáí segundo as normas do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2001).

Sousa, Melo e Almeida (1999) realizaram um trabalho sobre a contaminação do suco e dos frutos de açáí comercializados na cidade de Macapá (AP) e concluíram que, sob o ponto de vista sanitário, a maioria das amostras de açáí comercializadas na cidade de Macapá (AP) apresentaram condições higiênico-sanitárias insatisfatórias (Figura 5).

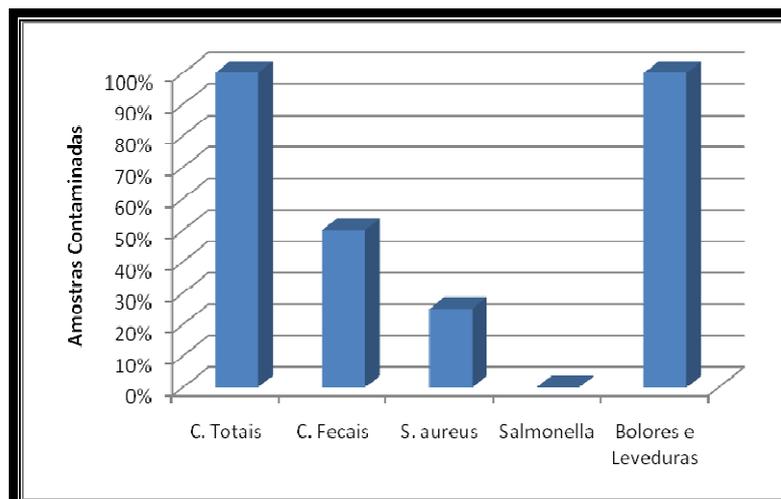


Figura 5. Resultados em percentuais amostrais das análises microbiológicas realizadas nos frutos de açai. Fonte: Sousa, Melo e Almeida (1999).

A multiplicação bacteriana no seu conjunto e dos coliformes fecais, em particular nos frutos de açai, é representada na Figura 6. Em média, as bactérias ganham uma primeira ordem logarítmica no espaço de 12 horas pós-colheita, e uma segunda decorridos mais 20 horas. Mesmo que as cinéticas dos 13 lotes de frutos estudados não tenham sido rigorosamente as mesmas, as variações que elas apresentaram não foram significativas (ROGEZ, 2000).

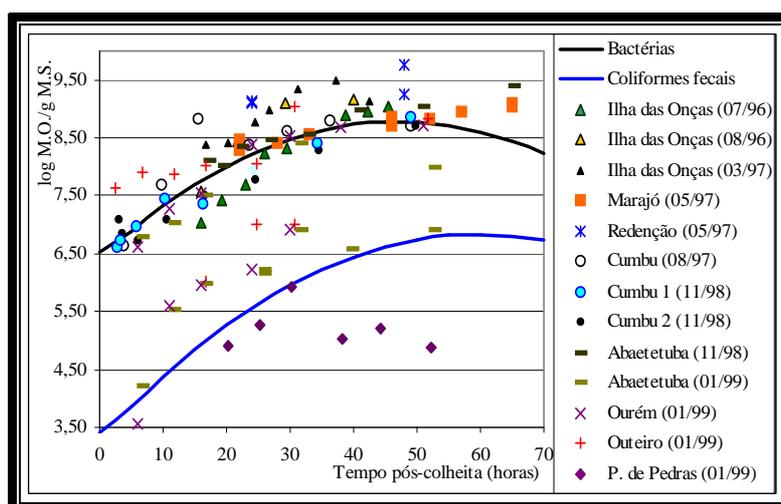


Figura 6. Cinética de crescimento médio das bactérias e dos coliformes fecais em função do tempo pós-colheita dos frutos. Entre parênteses (na legenda) estão o mês e ano de colheita dos frutos. Fonte: Rogez (2000).

A cinética de crescimento dos bolores e leveduras pode ser visualizada na Figura 7 e não apresenta diferença significativa segundo a proveniência dos frutos. Seu número aumenta em 10x e 100x depois de 20 e de 60 horas pós-colheita, respectivamente. Esse crescimento bastante rápido para este tipo de microrganismos é particular das leveduras (ROGEZ, 2000). Porém, nos produtos não ácidos, o desenvolvimento dos bolores e leveduras é muito lento se comparado com as bactérias.

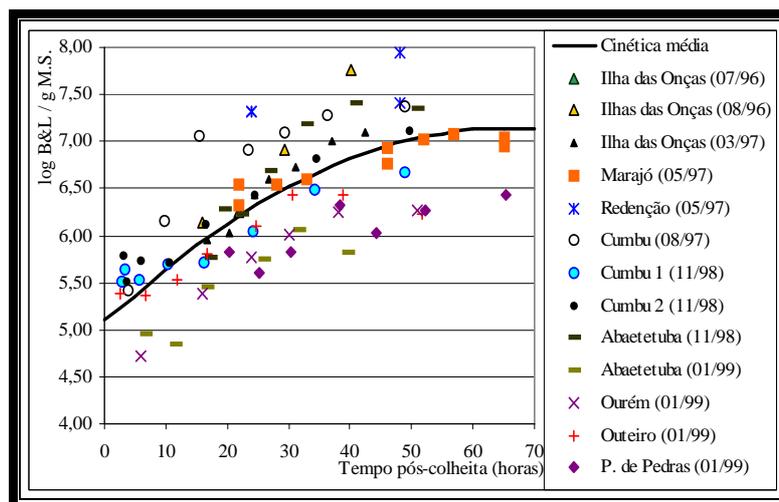


Figura 7. Cinética média de crescimento dos bolores e leveduras no açaí em função do tempo pós-colheita dos frutos. Entre parênteses (na legenda) estão o mês e ano de colheita dos frutos. Fonte: Rogez (2000).

Pompeu, Barata e Rogez (2009) estudaram o impacto do tempo e da temperatura de armazenamento sobre o crescimento de bactérias mesófilas e perda de massa dos frutos do açaizeiro. Os resultados mostraram que ambas as variáveis de entrada influenciaram fortemente nas duas respostas avaliadas ($p < 0,001$), como mostram a Figura 8 e Figura 9.

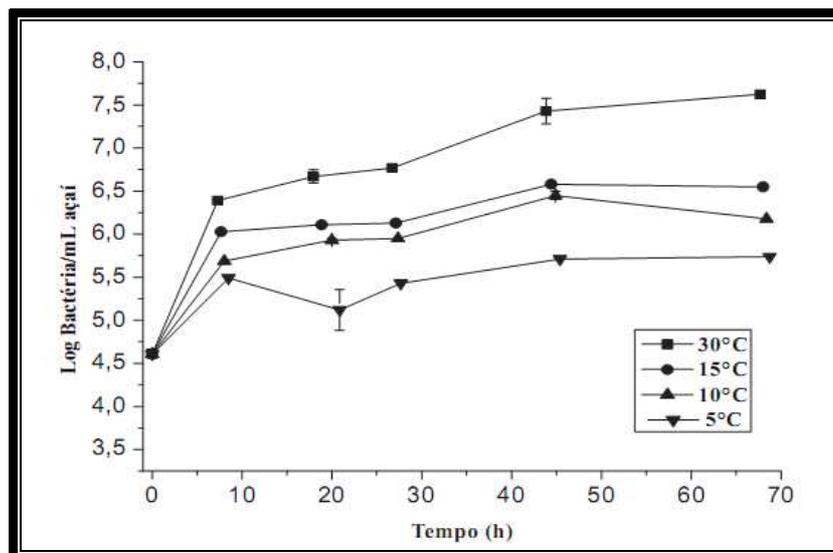


Figura 8. Evolução das bactérias mesófilas totais em função do tempo e temperatura de armazenamento dos frutos do açazeiro (POMPEU, BARATA e ROGEZ, 2009).

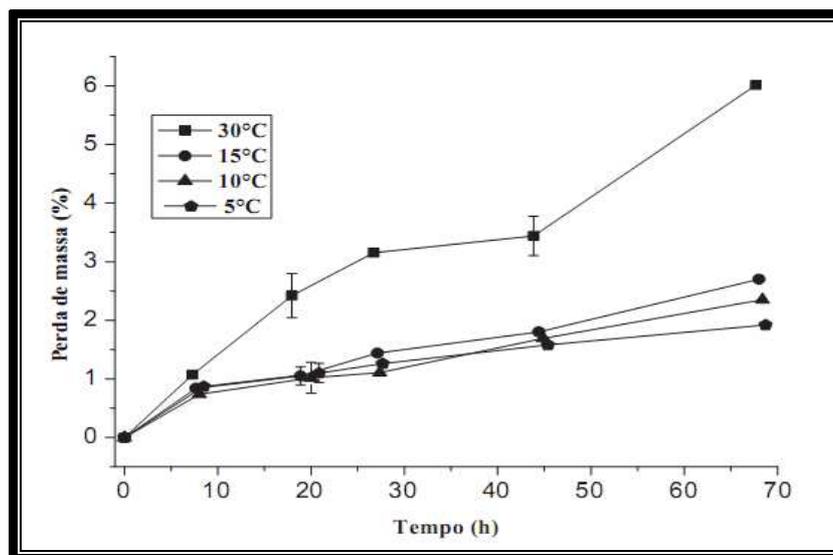


Figura 9. Perda de massa dos frutos do açazeiro em função do tempo e temperatura de armazenamento dos frutos do açazeiro (POMPEU, BARATA e ROGEZ, 2009).

A cinética acelerada de crescimento microbiano nos frutos do açazeiro sugere um processo fermentativo, principalmente pelo longo período em que os frutos permanecem acondicionados em paneiros empilhados e nos porões de barcos (≤ 38 horas), onde a circulação de ar é mínima. Entretanto, o teor de açúcares no açai é baixo (Tabela 1), justificando um estudo para qualificar e quantificar a produção de compostos bioquímicos

fermentativos, explorando, desta forma, um novo estudo sobre a fermentação em uma das mais importantes matrizes de origem vegetal da Região Amazônica: o açaí.

2.2 FERMENTAÇÃO EM MATRIZES ALIMENTÍCIAS

2.2.1 Contexto Histórico

Após a secagem, a fermentação é o método mais antigo de preservação de alimentos. Originário do Oriente (China e Japão), a fermentação foi introduzida na Europa e Estados Unidos, onde sofreu inúmeras adaptações (GOLDONI e GOLDONI, 2008).

Os alimentos fermentados foram, muito provavelmente, os primeiros consumidos pelos humanos. Isso se deu, não porque os primeiros humanos tinham realmente planejado ou tiveram a intenção de fazer um produto fermentado, mas sim porque a fermentação era simplesmente o resultado inevitável de matérias-primas deixadas em estado propício à proliferação de microrganismos (HUTKINS, 2006).

A história da fermentação passa pelo francês Luis Pasteur, que em meados do século 19, contribuiu significativamente para a compreensão do papel dos microorganismos e também mostrou que há muitos tipos de fermentação. Segundo Prajati e Nair (2008), desde a época de Pasteur verificou-se aumentos sobre o conhecimento da microbiologia, bioquímica, tecnologia e aspectos de engenharia de alimentos envolvendo a fermentação. Atualmente, o mercado oferece uma série de alimentos e bebidas fermentadas, incluindo leites fermentados, cereais fermentados, frutas, legumes, peixe, carne e muitos outros produtos misturados.

A fermentação se tornou popular com o alvorecer da civilização, pois não apenas conserva os alimentos, mas também atribui-lhes variedade de gostos, formas e outras características sensoriais. Aos poucos, as pessoas perceberam o valor nutritivo e terapêutico dos alimentos fermentados, e isso os fez ainda mais populares (PRAJAPATI e NAIR, 2008). No Quadro 1 apresentam-se os marcos evolutivos deste processo nos alimentos.

Quadro 1. Marcos na história dos alimentos fermentados.

Períodos	Eventos
Aprox. 10000 a.C. a Idade Média	Evolução da fermentação para salvar a produção excedente de alimentos, provavelmente pelos povos pré-arianos
Aprox. 7000 a.C.	Queijos e pães são produzidos
Aprox. 6000 a.C.	Vinificação no Oriente Médio
Aprox. 3500 a.C.	Panificação no Egito
Aprox. 1500 a.C.	Elaboração de carnes embutidas pelos babilônios
2000 a.C.–1200 d.C.	Elaboração de diferentes tipos de leites fermentados em diversas regiões do mundo
Aprox. 300 a.C.	Conservação de hortaliças pelos chineses
500–1000 d.C.	Desenvolvimento de alimentos fermentados a base de cereais e legumes
1881	Literatura publicada sobre <i>koji</i> e saquê
1907	Publicação do livro <i>Prolongando a Vida</i> de Eli Metchnikoff, descrevendo os benefícios terapêuticos dos leites fermentados
1900–1930	Aplicação da microbiologia na fermentação, uso de culturas definidas
1970–presente	Desenvolvimento de produtos contendo culturas probióticas ou bactérias intestinais desejáveis

Fonte: Adaptado de Prajapati e Nair (2008).

Conceitualmente, segundo Gava (1986), a fermentação é um processo de obtenção de energia utilizado por algumas bactérias e outros organismos, podendo ser espontânea ou induzida por meio de culturas *starter*. Ela ocorre com a quebra da glicose (ou outros substratos como o amido) em piruvato, que depois é transformado em algum outro produto, como o etanol e o lactato, definindo fermentação alcoólica e láctica, respectivamente (Figura 10). A fermentação também pode ser propiônica, butírica, oxálica, acética, entre outras.

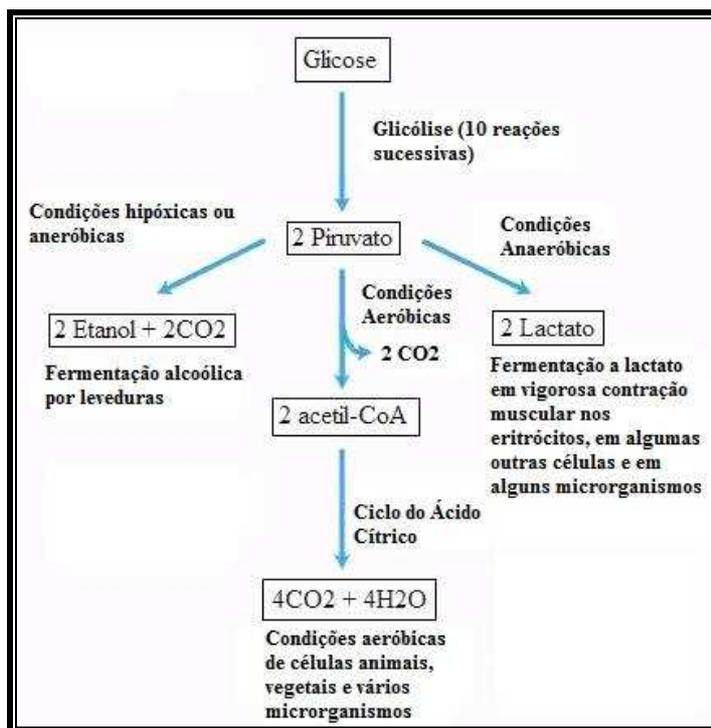


Figura 10. Três possíveis vias catabólicas do piruvato formado na glicólise. Fonte: Lehninger, Nelson e Cox (2002).

Na fermentação, a obtenção de energia não utiliza o oxigênio como receptor final de elétrons, por isso é chamado de respiração anaeróbia. As bactérias e/ou fungos necessitam de elementos básicos, como o carbono, o hidrogênio e o nitrogênio e estes elementos são os principais constituintes de carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos, que por sua vez, são as bases constituintes dos alimentos (BAMFORTH, 2005).

2.2.2 Fermentação em Matrizes Alimentícias de Origem Vegetal

Na área de alimentos, um vegetal é o componente comestível de uma planta, incluindo folhas, caules, raízes, tubérculos, bulbos, flores, frutos e sementes. Em cogumelos, o corpo de frutificação é normalmente o órgão de interesse. Com a exceção de certas sementes, tecidos vegetais são pobres em proteínas. Água, fibras, amido, algumas vitaminas, minerais, e alguns lipídeos são os componentes principais (BAMFORTH, 2005).

Em geral, o pH do tecido vegetal está no intervalo de 5 a 7. Dado que a composição total e pH são muito favoráveis, o crescimento de várias espécies microbianas pode ser esperado, se houver umidade adequada. No entanto, este crescimento pode ser neutralizado e/ou inibido por ácidos orgânicos produzidos durante a própria fermentação, por bactérias

láticas e acéticas, por exemplo (MONTET, LOISEAU, ZAKHIA, 2004). Em geral, frutas apresentam altos teores de açúcares e ácidos orgânicos e, portanto, o pH constitui-se ácido. Frutas tropicais apresentam-se ainda mais ácidas, com o pH entre 3 e 5, como o cupuaçu, a acerola, o taperebá, o caju, entre outras. Entretanto, melão e algumas outras frutas tropicais possuem pH próximo da neutralidade (ICMSF, 2005).

Wu e Fung (2006) investigaram a sucessão microbiana na fermentação de picles chinês a diferentes concentrações de sal e encontraram resultados que apontaram semelhança nas contagens de bactérias mesófilas (meio de cultura PCA – *Plate Count Agar*) e de láticas, tanto em meio Ágar-MRS (*Man Rogosa Sharpe*), quanto em meio Ágar-KF (Kang-Fung) (Figura 11). Este comportamento foi obtido em todas as concentrações de sal utilizadas (2°, 10° e 20° salômetro). O meio de cultura Ágar-EMB (*Eosin Methylene Blue*) foi utilizado para a contagem de bactérias gram negativas.

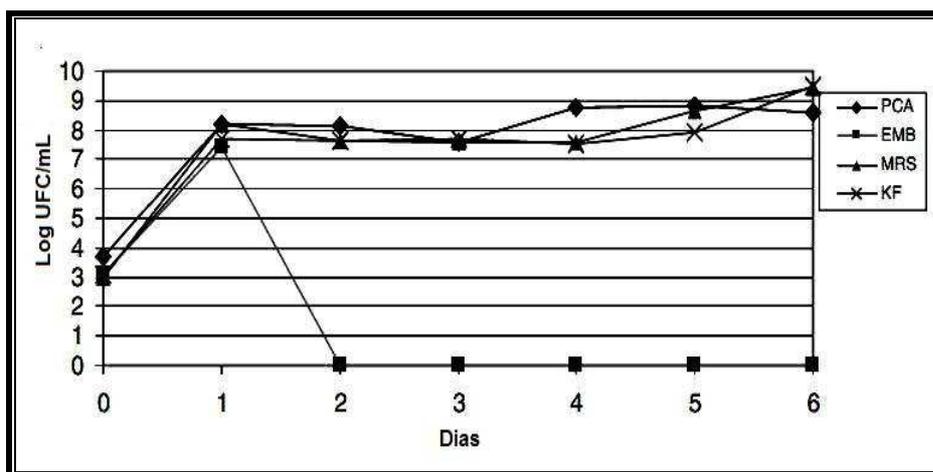


Figura 11. Contagem da flora bacteriana fermentativa de picles chinês (UFC: Unidade Formador de Colônia; PCA: *Plate Count Agar*; EMB: *Eosin Methylene Blue*; MRS: *Man Rogosa Sharpe*; KF: Kung Fung). Fonte: Wu e Fung (2006).

2.2.2.1 Fermentação Alcoólica

A fermentação alcoólica é um processo exotérmico que resulta da transformação de açúcares simples em etanol (ver Figura 10), como produto principal, pela ação leveduriana, em concentrações baixas de oxigênio. Esta transformação de glicose em duas moléculas de etanol e duas de gás carbônico (oxidação incompleta) é possível pela presença de enzimas produzidas pelas leveduras. O gênero *Saccharomyces* é o mais utilizado em fermentações

induzidas nas grandes indústrias de panificação, cerveja, vinhos, entre outras, pela alta taxa de conversão (GAVA, 1984; CHANDRARAJ e GUNASEKARAN, 2004).

A molécula de glicose passa, em processo anaeróbico, por doze etapas intermediárias antes de ser transformada em etanol e gás carbônico. A conversão simplificada é realizada da seguinte maneira:



O rendimento teórico da fermentação alcoólica, em condições controladas, é de a cada 100 gramas de glicose, gerar 51,1 gramas ou 64,6 mL de etanol. Na prática, mesmo em condições experimentais bem controladas, o rendimento mais elevado não ultrapassa 48% em massa e, no processo industrial, o rendimento é ainda menor (GAVA, 1984).

Segundo Hashizume (2008), não se pode prever, com precisão, a natureza e a quantidade de subprodutos que advêm de uma fermentação alcoólica. Entretanto, pesquisas recentes revelaram que os açúcares são transformados em: 2,5 a 3,0% em glicerol, 0,2 a 0,4% em ácido láctico, 0,02 a 0,10% em ácido succínico, 0,2 a 0,7% em ácido acético, 0,05 a 0,10% em butilenoglicol, e de 1 a 2% são utilizados no crescimento e respiração da levedura.

A temperatura de fermentação é um fator extremamente importante. Para a maioria das leveduras, a faixa ótima é de 25°C a 30°C. Em processos industriais, a aeração é necessária para a multiplicação das leveduras. Estas células se multiplicam vigorosamente no mosto até que a maior parte do oxigênio dissolvido seja consumido, e então fermentam os açúcares. No mosto de uva, para a produção de vinhos, há proporções iguais de glicose e frutose, sendo a primeira fermentada mais rapidamente pela levedura empregada, *Saccharomyces ellipsoideus* (HASHIZUME, 2008).

Dentre os tipos de fermentações, a fermentação alcoólica apresenta-se como a mais importante economicamente, sendo o processo de vários produtos altamente comercializados no mundo, como a cerveja, o vinho, as bebidas destiladas, bebidas álcool-ácidas (*kefir*), entre outras. No oriente existem os produtos álcool-fermentados tradicionais, como o *saquê*, *missô*, *shoyu* e *natô* (SATO, 2008).

2.2.2.2 Fermentação Láctica

A fermentação láctica é utilizada na conservação de alimentos vegetais, carnes e produtos lácteos, como meio exclusivo de preservação ou como tratamento preliminar para o preparo de produtos finais. Neste tipo de fermentação, as bactérias se desenvolvem numa sequência natural, e o papel de cada uma é primariamente governado pelas condições ambientais (GOLDONI e GOLDONI, 2008).

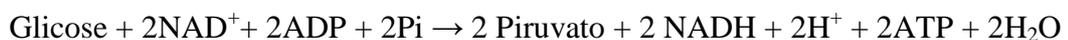
No decorrer do processo fermentativo, três grupos de microrganismos são encontrados: as bactérias lácticas, as enterobactérias e as leveduras. As duas últimas crescem em detrimento às bactérias lácticas. Numa fermentação normal, as enterobactérias terão o seu desenvolvimento inibido quando o pH do meio atingir valores próximos de 4,5 (GOLDONI e GOLDONI, 2008).

De acordo com Jay (2005), a fermentação láctica, tal como a alcóolica, realiza-se em duas fases, sendo:

1ª Fase: Glicólise

A glicólise ocorre em dois estágios. O primeiro trata-se de um estágio preparatório, em que a glicose é fosforilada e clivada para gerar 2 moléculas de triose fosfato. Este processo consome 2 ATP, como uma forma de investimento energético. No segundo estágio, as 2 moléculas de triose fosfato são convertidas a piruvato, com a concomitante geração de 4 ATP. A glicólise, portanto, tem um rendimento de 2 ATP por glicose.

A equação global final da glicólise é:



2ª Fase: Fermentação Láctica

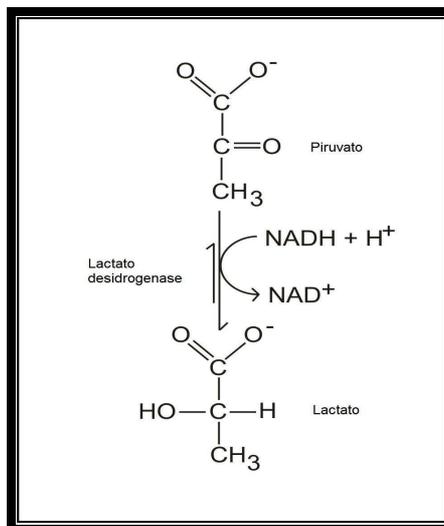


Figura 12. Redução de piruvato a lactato pela enzima lactato-desidrogenase (JAY, 2005).

Após a glicólise, a redução do piruvato é catalisada pela enzima lactato-desidrogenase (Figura 12). O equilíbrio global dessa reação favorece fortemente a formação de lactato. Microrganismos fermentadores regeneram continuamente o NAD⁺ pela transferência dos elétrons do NADH para formar um produto final reduzido, como são o lactato e o etanol; esse último podendo ser produzido, também, na fermentação alcoólica pelas leveduras.

As bactérias lácticas podem ser homofermentativas ou heterofermentativas. As homofermentativas produzem principalmente ácido láctico pela via glicolítica Embden-Meyerhof. As heterofermentativas produzem ácido láctico, mais quantidades apreciáveis de etanol, acetato e CO₂ pela via da 6-fosfogluconato/fosfoacetolase (Figura 13) (SABATINI, MUCCIARELLA e MARSILIO, 2008). Muitos lactobacilos isolados de frutas são heterofermentativos, produzindo CO₂, ácido acético e etanol a partir de glicose (ICMSF, 2005).

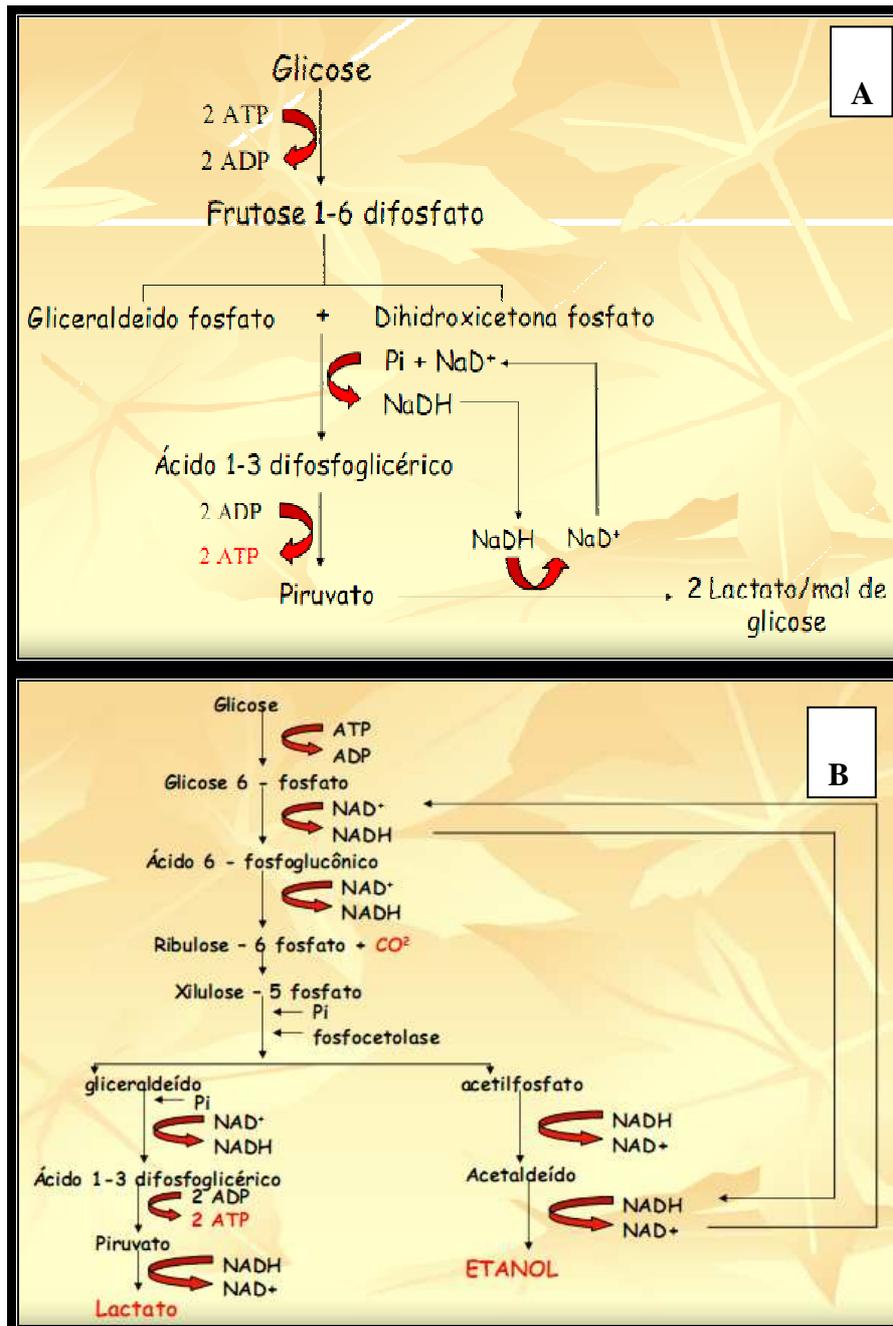


Figura 13. Via Ebden-Meyrhof utilizada pelas bactérias lácticas homofermentativas (A) e via da 6-fosfogluconato/fosfoacetolase utilizada pelas bactérias lácticas heterofermentativas (B).

Fonte: Angelis (2010).

2.2.2.3 Fermentação Acética

A fermentação acética é uma reação química que consiste na oxidação parcial e rápida, aeróbica, de substratos de carbono, especialmente açúcares e álcool, com produção de ácido acético (GULLO e GIUDICI, 2008). Desenvolve-se também na deterioração de bebidas de baixo teor alcoólico e de certos alimentos. É realizada por bactérias denominadas acetobactérias, produzindo, além de ácido acético, dióxido de carbono e vários compostos como acetaldeído, etil acetato e outros ésteres, e álcoois superiores, como o metil butanol (FELLOWS, 2000).

Em um processo de fermentação espontânea, bactérias acéticas terão sua atividade metabólica favorecida após a fermentação alcoólica pelas leveduras, disponibilizando o principal substrato para esse tipo de bactéria, o etanol, além do oxigênio, uma vez que bactérias acéticas são aeróbicas (SOLIERO e GIUDICI, 2009).

Massaguer (2005) cita a divisão das bactérias acéticas em dois gêneros, baseados na presença de flagelos peritríquios, em bactérias móteis oxidativas do acetato, denominadas *Acetobacter*, enquanto que as bactérias acéticas com flagelo polar e motilidade são chamadas de *Gluconobacter*. Os *Acetobacter* se distinguem pela oxidação do etanol e do ácido acético, os quais posteriormente são oxidados a CO₂ e H₂O. Esse gênero fermenta açúcares, formando ácido acético ou, ainda, utilizam esse ácido como fonte de carbono, tanto em aerobiose quanto em anaerobiose. Os *Gluconobacter* apresentam-se em pares ou cadeias, são aeróbios estritos e oxidam etanol a ácido acético. Ambos os gêneros são encontrados naturalmente em vegetais, frutas, sucos de frutas, bebidas, entre outros.

A fermentação acética originou um dos produtos mais antigos da humanidade, o vinagre. Este é produzido por dois processos bioquímicos distintos: a fermentação alcoólica, pela ação de leveduras sobre matérias-primas açucaradas e amiláceas, e a fermentação acética (BORTOLINI, SANT'ANA e TORRES, 2001), pela atividade de bactérias, principalmente dos gêneros *Acetobacter* e *Gluconobacter*, sobre o mosto alcoólico obtido pela ação das leveduras. Nem todas as espécies produzem a mesma quantidade de ácido acético, por exemplo, a *A. aceti* produz 6,6% em volume, *A. xylinum* produz 4,5%, enquanto que *A. schutzenbachi* produz 10,9% e *A. ascendens* produz 9,0%. Uma base de 75% do acetaldeído formado é convertido em ácido acético e os 25% restante em etanol (MASSAGUER, 2005).

Pesquisas recentes mostram a evolução sobre a fermentação acética, com relação à sucessão bacteriana. Pode-se citar como exemplos o caso de De Vero et al. (2006) que identificaram 15 espécies de bactérias acéticas, a partir de amostras de vinagre balsâmico tradicional, pela técnica de Eletroforese em Gel acoplada a PCR, e de Gullo et al. (2006) que mostraram que o maior obstáculo para o crescimento de bactérias acéticas é a alta concentração de açúcar, pois a maioria das cepas isoladas foram inibidas a 25% de glicose.

Este grupo de bactérias realiza oxidação incompleta através da via do ácido acético. Considerando que na maioria das vias oxidativas, como no Ciclo de Krebs e na fosforilação oxidativa, os substratos orgânicos são oxidados por completo a CO_2 e H_2O , na fermentação do vinagre, as bactérias acéticas oxidam o etanol apenas a ácido acético. Entretanto, exceções existem, onde a oxidação completa a CO_2 pode ocorrer (SOLIERI e GIUDICI, 2009).

Segundo Hutkins (2006), a oxidação do etanol em ácido acético envolve duas reações enzimáticas. Na primeira reação, o etanol é oxidado a acetaldeído pela enzima álcool desidrogenase; oxigênio é requerido comoceptor final de elétrons. Em seguida, a aldeído desidrogenase oxida mais acetaldeído a ácido acético. Uma reação intermediária de hidratação também pode ocorrer em que hidrato de acetaldeído é formado. Ambas as enzimas exigem Pirroloquinolina Quinona (PQQ) como co-fator, que serve como umceptor de elétrons (Figura 14).

Em meio fermentativo controlado, a conversão do etanol em ácido acético ocorre em uma base equimolar e, após as reações serem completadas, a concentração final de ácido acético será igual ao do etanol em matéria-prima (assumindo que há perda insignificante por evaporação) (HUTKINS, 2006). Portanto, em condições fermentativas não-controladas, a conversão, muito provavelmente, não será equimolar.

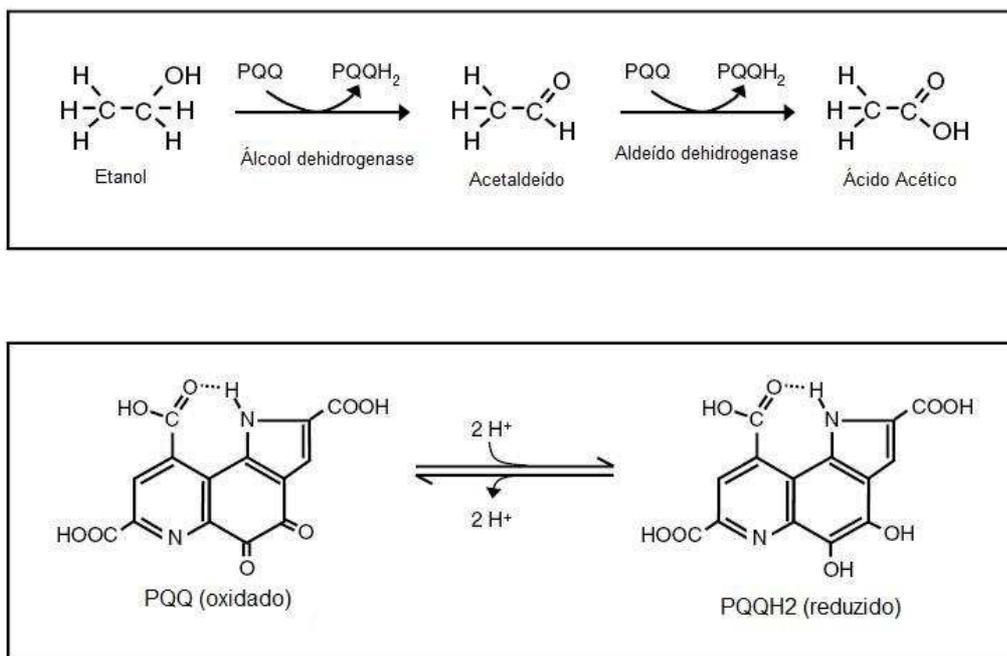


Figura 14. Formação de ácido acético a partir de etanol por *Acetobacter aceti* (HUTKINS, 2006).

2.3 DOENÇA DE CHAGAS

2.3.1 Generalidades

A Doença de Chagas (DC) ou tripanossomíase americana foi descrita pelo médico sanitário Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas - Carlos Chagas - em 1909. Este brasileiro descreveu o agente causador ou etiológico (*Trypanosoma cruzi*), o transmissor (barbeiro, fincão, chupança, entre outros) e os modos de transmissão da doença, como também comprovou a existência de vertebrados que são reservatórios silvestres e domésticos do parasita, esclarecendo assim os aspectos básicos da epidemiologia da doença (ARGOLO et al., 2008; BRASIL, 2009).

É uma doença do continente americano (sul dos Estados Unidos até a Argentina) e está entre os principais problemas de saúde da América do Sul, comprometendo a qualidade de vida das populações carentes (WIZEL, GARG e TARLETON, 1998) e infectando, através dos seus variados mecanismos de transmissão, aproximadamente 10 milhões de pessoas na América Latina (NÓBREGA et al., 2009).

As duas formas que acometem em maior número a transmissão parasitária, são a transmissão vetorial, através da picada do inseto, e a oral. Em 9 de junho de 2006 a Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial de Saúde (OPAS/OMS) certificou o Brasil como área livre de transmissão vetorial pelo *Triatoma infestans* (BENCHIMOL-BARBOSA, 2009). A transmissão oral está intimamente relacionada ao consumo de alimentos contaminados com *T. cruzi* encontrado no inseto esmagado ou nas suas dejeções, tais como carne crua ou mal cozida de caça e, ultimamente ao consumo de sucos como o caldo de cana e o açaí, sendo que neste último, a contaminação é exclusiva na Região Amazônica Brasileira (VALENTE, 2008; PARÁ, 2009).

Vale ressaltar que o resfriamento ou o congelamento de alimentos não previne a transmissão oral do *T. cruzi*, mas a cocção acima de 45°C, a pasteurização e a liofilização o fazem. A prevenção por irradiação de alimentos através de raios gama mostra-se sem eficácia, na prática, pelo elevado custo. Uma série de compostos químicos, teoricamente, podem eliminar o parasita de alimentos suspeitos, assunto praticamente não explorado e que merece investigação (DIAS, 2006; PASSOS e GUARALDO, 2010).

2.3.2 Os Triatomíneos e Fatores de Atração

Pertencentes à subfamília *Triatominae*, a qual está representada por 137 espécies descritas, os triatomíneos ocorrem na América Latina, mas apenas sete figuram na lista de principais vetores da DC: *Triatoma infestans*, *T. dimidiata*, *T. sordida*, *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata*, *Panstrongylus megistus* e *Rhodnius prolixus* (GALVÃO et al., 2003). Entretanto, na Amazônia Brasileira as espécies acima nunca foram encontradas, e sim outras espécies, que também podem ser transmissores (Figura 15).

Os triatomíneos, como insetos hematófagos, dedicam várias de suas habilidades sensoriais a detectarem sinais físicos e químicos emitidos por seus hospedeiros (LAZZARI, REISENMAN e INSAUSTI, 1998; REISENMAN et al., 2000). Características morfológicas internas e externas das antenas destes insetos e propriedades funcionais das células receptoras determinam a natureza dos estímulos que são capazes de detectar. Assim, os mecanismos podem ser mecanosensitivos, quimiosensitivos, termosensitivos, higrosensitivos ou suas combinações, sendo que as três melhores pistas de fonte alimentar para os triatomíneos são o calor, a umidade e os odores (GUERENSTEIN e LAZZARI, 2008); fatores estes que serão abordados a seguir, juntamente com a luz.

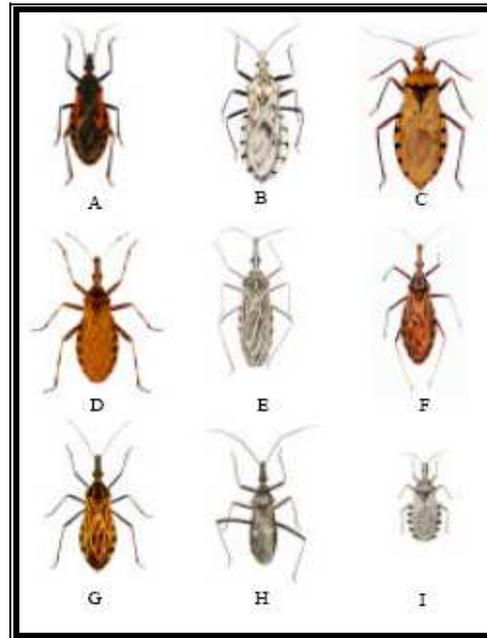


Figura 15. Principais espécies de triatomíneos capturadas e identificadas na Amazônia Brasileira: A) *Triatoma rubrofasciata*; B) *Panstrongylus liganrius*; C) *P. geniculatus*; D) *Rhodnius pictipes*; E) *R. robustus*; F) *R. milesi*; G) *R. brethesi*; H) *Eratyrus mucronatus*; I) *Microatriatoma trinidadenses*. Fonte: IEC, 2007.

2.3.2.1 Calor

A sensibilidade dos triatomíneos ao calor é extremamente alta. Eles reagem mesmo com detecções mínimas de energia. Nos experimentos de Lazzari e Núñez (1989) foram obtidas respostas significativas quando foram utilizadas pequenas fontes de calor e apenas alguns $\mu\text{Watt}/\text{cm}^2$ sensibilizaram o inseto. Em termos de intervalos de detecção, isto significa dizer que eles seriam capazes de perceber um rosto humano numa distância de 2 metros e um cachorro a vários metros de distância.

Triatomíneos permanecem sendo o único grupo de insetos sugadores de sangue, para o qual a capacidade de perceber a radiação infravermelha emitida pelo corpo do hospedeiro tem sido demonstrada (LAZZARI e NÚÑEZ, 1989; SCHMITZ et al., 2000). Mas o que isso significa em termos de localizar um hospedeiro? Para a resposta, alguns conceitos termodinâmicos são necessários. A transferência de calor entre dois corpos pode ocorrer por três diferentes processos físicos: condução, convecção e irradiação.

Quando o calor de condução energiza átomos, aumenta sua vibração, que por sua vez se propaga através do material. No caso em interesse, o material é o ar e o resultado é a formação de um gradiente de temperatura ao redor do corpo do hospedeiro, o qual pode ser usado como orientação pelos insetos (GUERENSTEIN e LAZZARI, 2008).

A convecção concerne em uma troca de calor com um fluido em movimento. Quando o fluido (ar) é aquecido por condução a partir de um corpo, sua temperatura aumenta e isto o torna menos denso. Subsequentemente, inicia-se um caminho ascendente a partir da fonte de calor. Quando a temperatura do fluido diminui, a densidade aumenta, iniciando um caminho descendente. Para alguns insetos hematófagos, a convecção não é apenas uma questão de transferência de calor, mas também de produção de correntes de ar ascendentes que transportam os odores dos hospedeiros. Mosquitos, por exemplo, parecem fazer uso de correntes de convecção numa abordagem vertical, de cima para baixo, a um hospedeiro (LEHANE, 2005 *apud* GUERENSTEIN e LAZZARI, 2008).

O terceiro mecanismo, a radiação, envolve a emissão e absorção de energia radiante de comprimentos de onda correspondente a região do infravermelho do espectro eletromagnético. Isso não requer condução em material e nem convecção de fluidos. Qualquer objeto em temperatura acima do zero absoluto (0 K ou -273°C) emite radiação infravermelha em um comprimento de onda correspondente a sua temperatura (GUERENSTEIN e LAZZARI, 2008).

A capacidade de detecção de calor radiante tem sido encontrada em três grupos de animais: serpentes, *Coleopteras pirofilicas*¹ e *Triatominae*. Para um inseto hematófago, esta detecção implica na habilidade de acessar, a partir de qualquer posição relativa, o calor emitido por um hospedeiro em potencial, sem perturbações causadas pelo vento, o qual rompe gradientes de condução e correntes convectivas (JURBERG et al., 2005).

2.3.2.2 Luz

As moléculas que constituem os receptores da radiação eletromagnética dos diversos sistemas visuais apresentam uma ampla variação, que inicia em torno de 350 nm e termina provavelmente no infravermelho, em torno de 800 nm, com sensores específicos pouco

¹ Insetos conhecidos como besouros americanos, ou simplesmente, besouros.

comuns. Os insetos possuem uma escassa sensibilidade ao vermelho. Apesar disto, visitam flores e frutos de cor vermelha e são atraídos por estes porque as plantas possuem mecanismos específicos para se tornarem visíveis. As flores apresentam pigmentos, as antocianinas, que refletem a radiação UV. Tal pigmento muda profundamente a aparência e a visibilidade quando os sensores óticos possuem essa capacidade de discriminação (BARGHINI, 2008). Um exemplo visual é apresentado na Figura 16.



Figura 16. *Taraxacum vulgare* (Asteraceae) fotografada com objetiva normal (A) e com objetiva que destaca a radiação UV (B). Fonte: Rørslett (2002).

A área central da flor da Figura 16 B, local de atração dos insetos para a polinização, é de um tamanho mais que o dobro, com relação à Figura 16 A, devido ao pigmento sobre as pétalas e consequente reflexão da radiação UV, gerando uma maior visibilidade da área central.

A visão na banda do ultravioleta A (entre 320 nm e 400 nm) (Figura 17) está presente apenas nos insetos, répteis e aves, enquanto nos mamíferos, e em especial no homem, essa visão inicia apenas por volta dos 400 nm (BARGHINI, 2008). Reisenman e Lazzari (2006) citam que a maioria das espécies de insetos possui três tipos de fotoreceptores espectrais com picos de sensibilidades no ultravioleta (~ 350 nm), azul (~ 440 nm) e no verde (~ 530 nm).

Triatoma infestans, um inseto hematófago de atividades noturnas, constitui um modelo adequado para estudar as propriedades e modulação da resposta *fototáxica*² através de

² Movimento em reação a estímulos de luz.

mudanças na intensidade luminosa. Completamente diferente de outros insetos diurnos, esta espécie apresenta um ritmo de atividade que se divide em crepúsculo e amanhecer (LAZZARI, 1992), sendo, portanto, expostos a uma ampla mudança da intensidade da luz. Sob condições de ambiente aberto, insetos desta espécie exibiram um comportamento fototáxico negativo para estímulos à luz branca e verde (WARD e FINLAYSON 1982 *apud* REISENMAN, LAZZARI e GIURFA, 1998).

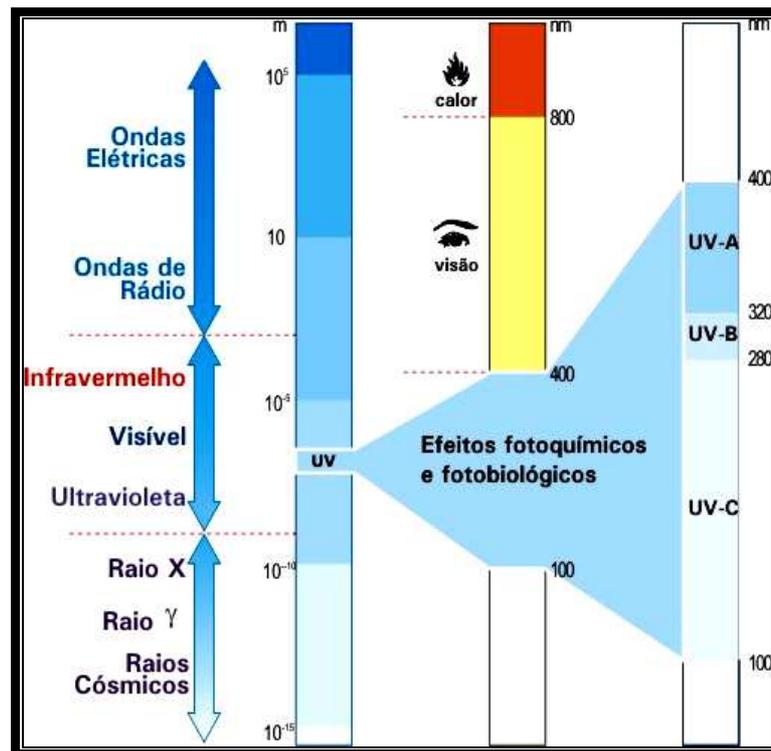


Figura 17. Espectro eletromagnético. Fonte: INPE (2009). Disponível em: <http://satelite.cptec.inpe.br/uv/R-UV.html>.

Reisenman e Lazzari (2006) detectaram que insetos da espécie *T. infestans* (n=114) tendem a permanecer menos tempo no escuro quando existem fontes de iluminação com comprimentos de onda na região de 357 nm (UV-A) e 600-700 nm (laranja ao vermelho).

Minoli e Lazzari (2006) estudaram a tendência de vôo das espécies *T. infestans* e *R. prolixus*, machos e fêmeas, quando submetidas à luz branca, UV ou sem luz (escuridão), adotando as variáveis de entrada: tipo de luz e sexo. *R. prolixus* apresentaram, estatisticamente ($F_{(1,55)} = 6,06$, $p < 0,02$), maior tendência para voar (51,1%) do que *T. infestans* (40,0%). Porém, a presença de luz não afetou esta tendência ($F_{(2,55)} = 1,07$, $p > 0,03$), sendo os resultados estatisticamente sem diferenças: 46,9% iniciaram vôo sob condições de

escuridão, 46,2% na presença de luz branca e 40,0% na presença de luz UV. *T. infestans* preferiu voar em direção à luz branca ($\chi^2_{(7)} = 16,08, p < 0,02$), mas exibiu vôo randomizado quando submetido à luz UV ($\chi^2_{(7)} = 4,61, p > 0,50$) ou branca ($\chi^2_{(7)} = 1,45, p > 0,99$). Por outro lado, *R. prolixus* apresentaram vôo randômico na escuridão ($\chi^2_{(7)} = 5,55, p > 0,50$), mas foi significativamente atraído à luz branca ($\chi^2_{(7)} = 63,36, p < 0,001$). Com relação à presença de luz UV, esta espécie exibiu um comportamento de vôo bidirecional ($\chi^2_{(7)} = 14,74, p < 0,05$), ora a favor, ora contra a fonte de luz.

Com relação ao sexo, fêmeas (46,5%) e machos (33,5%) de *T. infestans* iniciaram vôo, com diferença estatística significativa ($\chi^2_{(1)} = 12,44, p < 0,001$); não foi o caso do *R. prolixus*, onde 52,5% das fêmeas iniciaram vôo contra 45,4% dos machos, portanto, sem diferença significativa ($\chi^2_{(1)} = 2,13, p > 0,1$).

Utilizando armadilhas com luz azul e UV instaladas nos espaços extra e peridomiciliares, entre 19:00h e 22:00h, Luitgards-Moura et al. (2005) realizaram capturas em assentamentos rurais, Roraima-Brasil, das espécies *Triatoma maculata*, *Rhodnius pictipes*, *Rhodnius robustus* e *Panstrongylus geniculatus* (Tabela 2).

Tabela 2. Espécies de triatomíneos capturados em assentamentos rurais de Roraima-Brasil, entre Janeiro de 1999 e Fevereiro de 2001.

Assentamento	Espaço	Espécie de Triatomíneos	nº de insetos	Positiva (<i>T. cruzi</i>)
Rorainópolis	Intradomiciliar	<i>R. pictipes</i>	450	0
		<i>R. robustus</i>	450	0
	Peridomiciliar (anexos de animais)	<i>R. pictipes</i>	450	0
		<i>R. pictipes</i>	45	26
	Peridomiciliar (palmeira ¹)	<i>R. pictipes</i>	45	26
		<i>R. robustus</i>	45	26
Extradomiciliar (palmeira)	<i>R. pictipes</i>	30	16	
	<i>R. robustus</i>	30	16	
Passarão	Intradomiciliar	<i>T. maculata</i>	48	2
		<i>P. geniculatus</i>	1	1
	Peridomiciliar	<i>T. maculata</i>	48	2
		Extradomiciliar (ninhos de aves ²)	-	6
Ilha	Intradomiciliar	-	17	0

¹-Em Rorainópolis, *R. pictipes* e *R. robustus* foram capturados nos espaços peridomiciliar e extradomiciliar em palmeiras de buriti (*Mauritia flexuosa*); ²-6 ninhos da ave *Egretta thula* (garça).

2.3.2.3 Umidade Relativa

A Umidade Relativa (UR) é um fator ambiental que pode influenciar diferentes aspectos da vida de um inseto (GUARNERI et al., 2002), por isso vários pesquisadores a tomaram como alvo de seus estudos, fazendo correlações com os triatomíneos.

O vapor d'água tem sido reportado como boa pista de localização de hospedeiros vertebrados por insetos hematófagos, entretanto muitos estudos mostram-se restritos com relação às propriedades eletrofisiológica ou morfológica das células sensoriais (BARROZO, MANRIQUE e LAZZARI, 2003). De acordo com Brown (1951), a umidade é o principal atraente quando a temperatura do ar atinge certos valores.

Wiggleswoth e Gillet (1934) reportaram que fontes de calor úmido são mais atrativos do que fontes de calor seco e encontraram tal efeito sobre a espécie *R. prolixus*. Isso pode ser bem relacionado com os animais que eliminam calor através da superfície corporal sob várias formas, uma delas é por evaporação de água.

Roca e Lazzari (1994), estudando a influência da UR sobre *T. infestans*, verificaram que tanto adultos quanto ninfas permaneceram indiferentes, em relação ao alimento, em UR próximas de zero. Lorenzo e Lazzari (1999) apresentaram que esta mesma espécie prefere abrigos com baixa UR, enquanto que Barrozo, Manrique e Lazzari (2003) concluíram que fontes úmidas de calor, à temperatura ambiente, foram atrativas a *T. infestans*, porém tal efeito foi limitado a curtas distâncias entre o inseto e a fonte de umidade. Por outro lado, fontes dinâmicas, como correntes de ar carreando vapor d'água, não afetaram o comportamento espontâneo desta espécie.

R. robustus prefere ambientes úmidos, como o da Região Amazônica. Rocha et al. (2001) citam que esta espécie, muito encontrada nos Estados do Pará e Amazonas, apresentaram rápida adaptação a ambiente laboratorial com UR baixa (40%). Porém, a temperatura exerceu maior influência no comportamento biológico dos insetos. Gómez-Nuñez (1964), num estudo sobre criação de *R. prolixus*, percebeu que a UR exerce maior impacto comportamental sobre o inseto, quando está associada a elevadas temperaturas ambientais (>30°C).

2.3.2.4 Odores

Os odores viajam pelo ar em discretos pacotes que, em determinada distância da fonte, se espalham no ar limpo e são detectados como estímulos intermitentes (pulsados). Para um inseto, em pleno vôo, encontrar a fonte do odor, a frequência de estimulação pode ser alta, e à medida que esta aumenta, o inseto aborda a fonte (GUERENSTEIN e LAZZARI, 2008).

A detecção dos odores dos hospedeiros ativa os triatomíneos, os quais tendem a aumentar sua atividade locomotora (NÚÑEZ, 1982; TANEJA e GUERIN, 1995; GUERENSTEIN e GUERIN, 2001). Em habitats domésticos, o aumento desta atividade espontânea ou induzida por odores (ativação) pode fazer com que os insetos deixem seu refúgio em direção aos odores mesmo que encontrem-se a longas distâncias (atração). Ambas as respostas comportamentais, ativação e atração, podem ser evocadas pelas misturas de odores naturais dos hospedeiros ou por um só constituinte desta mistura (GUERENSTEIN e LAZZARI, 2008).

É conhecido que o gás carbônico (CO₂) exerce um efeito positivo de atração sobre insetos hematófagos (GUERENSTEIN e HILDEBRAND, 2008). Esta é uma das consequências da adaptação dos triatomíneos ao habitat humano, o qual oferece abundante alimento (sangue), bem como ao seu peridomicílio (habitat de aves, mamíferos e répteis) (BARROZO e LAZZARI, 2004b).

T. infestans foram atraídos por CO₂ sob as condições de estimulação pulsada e contínua, embora uma elevada frequência de pulsação tornasse o CO₂ um repelente (BARROZO e LAZZARI, 2004b). Não se sabe se esta diferença interespecífica é, por exemplo, relatada enquanto o triatomíneo caminha em busca de hospedeiro ou por causa de seu habitat, onde o odor pode se dispersar de uma maneira mais homogênea (isto pode ser esperado à noite, especialmente nos habitats domésticos e peridomésticos, onde a turbulência atmosférica é menor e os odores mais contínuos) (LEHANE, 2005 *apud* GUERENSTEIN e LAZZARI, 2008).

As respostas orientadas em direção ao CO₂ são moduladas pelo *ritmo circadiano*³ endógeno. Os insetos respondem ao CO₂ apenas no início da *escotofase*⁴, quando saem à procura de alimento (BARROZO, MINOLI e LAZZARI, 2004; BARROZO e LAZZARI, 2004a). Um estudo sobre a produção de CO₂, a partir de leveduras da panificação, apresentou efeito atrativo aos triatomíneos, em armadilhas de laboratório e sob condições naturais (GUERENSTEIN et al., 1995; LORENZO, REISENMAN e LAZZARI, 1998).

Gás carbônico tem sido testado com outros odores, como os Ácidos Graxos de Cadeia Curta (AGCC) e o ácido láctico, os quais são comumente encontrados na transpiração de hospedeiros vertebrados, por exemplo, roedores, aves, humanos, coelhos, entre outros. Os resultados obtidos estão sumarizados no Quadro 2.

Quadro 2. Mistura de odores sintéticos testados em estudos comportamentais de triatomíneos. L-AL: L-(+) Ácido Láctico; C₃-C₆: referem-se aos ácidos carboxílicos n-alifáticos.

Misturas Testadas	Aumento da ativação	Aumento da atração
L-AL + CO ₂ ^a	Não	Sim ^b
L-AL + C ₃	Sem dados	Sim ^b
L-AL + C ₄	Sem dados	Sim ^b
L-AL + C ₅	Sem dados	Sim ^b
L-AL + C ₃ + C ₄ + C ₅	Sem dados	Sim ^b
L-AL + C ₆	Sem dados	Não
C ₃ + C ₄ + C ₅	Sem dados	Não
C ₃ + C ₄ + C ₅ + CO ₂	Sem dados	Não
L-AL + C ₃ + C ₄ + C ₅ + CO ₂	Sem dados	Sim ^{b,c}
CO ₂ + Amônia ^{a,d}	Sim	Sim
Ácido Isobutírico + Nonanal	Não	Não
Ácido Isobutírico + Amônia	Não	Não
Ácido Isobutírico + CO ₂	Não	Não
1-octen-3-ol + CO ₂	Não	Não

^a Teste com ninfas de *R. prolixus*.

^b Efeito Sinérgico.

^c Atração similar ao evocado por odores de ratos.

^d Não houve resposta clara quando estes compostos foram testados isoladamente.

Fonte: Guerenstein e Lazzari (2008).

³ Designa o período de aproximadamente um dia (24 horas) sobre o qual se baseia todo o ciclo biológico do corpo humano e de qualquer outro ser vivo, influenciado pela luz solar.

⁴ Fase de escuro num período claro/escuro.

Não há estudos que correlacionem a atração de triatomíneos com propriedades químicas e/ou termofísicas de produtos de origem vegetal. Uma vez que esses insetos estão sendo encontrados com frequência em palmeiras da Região Amazônica, como buriti, inajá, mucajá, babaçú, patauá e dendê, é importante focar-se sobre estudos de prevenção da contaminação pelo *T. cruzi* nas cadeias de comercialização dos frutos amazônicos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

Frutos maduros de *E. oleracea* (126 kg) foram colhidos na região das ilhas do município de Abaetetuba-PA. Em seguida foram transportados até a sede do município para serem transportados, em barco, até Belém-PA. De imediato, os frutos foram levados do porto ao Laboratório de Compostos Bioativos da Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Federal do Pará. Este intervalo de tempo, entre colheita e chegada ao laboratório, foi de 10 horas.

3.2 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

De acordo com a explanação realizada (tópico 2, p. 20), evidenciou-se que as condições de transporte dos frutos de *E. oleracea* é um dos principais pontos críticos na deterioração dos mesmos. Portanto, as duas condições de transporte, dentro e fora do porão dos barcos, foram simuladas da seguinte maneira: oito frações de 10 kg de frutos foram acondicionados em oito caixas de isopor hermeticamente fechadas (Figura 18A) e outras oito frações de 1,8 kg de frutos foram empilhadas em um paneiro aberto (Figura 18B), com volumes mortos inicial e final de frutos, para evitar que as camadas das extremidades sofressem influências ambientais significativamente diferentes da massa de frutos no centro do paneiro.



Figura 18. As duas formas de acondicionamento dos frutos de *E. oleracea* neste estudo: em caixas de isopor fechadas (A) e em paneiro aberto (B), simulando as condições de transporte dos frutos: dentro e fora dos porões de barcos, respectivamente.

Utilizou-se apenas um paneiro com frações de menores massas, pois vários paneiros empilhados, com massas maiores de frutos, ter-se-ia condições semelhantes às das caixas de isopor hermeticamente fechadas, uma vez que os paneiros localizados no interior da pilha estariam em condições de pouca aeração. Em ambos os acondicionamentos houve acompanhamento da temperatura.

Das duas condições de acondicionamento, amostras de 1,8 kg de frutos foram coletadas nos tempos 0, 3, 7, 13, 20 e 27 horas, com triplicata no tempo de 7 horas. Em seguida, os frutos foram amolecidos em água a 45°C por 1 hora, para depois serem despulpados em despulpadeira mecânica vertical na proporção 1:1 (água:frutos).

A partir disso, os sucos obtidos foram acondicionados a -20°C para as análises de açúcares e cromatográficas. As análises microbiológicas foram realizadas de imediato no Laboratório de Microbiologia dos Alimentos (Faculdade de Engenharia de Alimentos/UFPA).

O calor específico, a entalpia da fermentação, a taxa respiratória e a perda de massa dos frutos foram realizados diretamente sobre os mesmos. Os três primeiros parâmetros têm relevância na relação com a atração aos triatomíneos, pois fornecem informações sobre a emissão de calor e CO₂ pelos frutos.

3.3 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

3.3.1 Calor Específico e Entalpia da Fermentação

Frutos de três proveniências distintas foram analisados: Abaetetuba, Ilha das Onças e Barcarena. Os frutos foram avaliados conforme sua variação de energia interna, na forma de liberação de calor, em um sistema adiabático, através do método das misturas calorimétricas, conforme descrito por Shrivastava e Datta (1999). Para isto, foi construído um calorímetro, onde se utilizou uma garrafa de vidro espelhado (500 mL), envolto em material isolante com 22 mm de espessura. Termômetros foram inseridos no interior do sistema.

Primeiramente, calculou-se a capacidade calorífica do calorímetro (C_C) através da determinação da mudança de temperatura de uma dada massa de água destilada (M_2) a uma temperatura maior (T_2), quando uma massa conhecida de água destilada (M_1), a uma temperatura menor (T_1), foi adicionada ao sistema, alcançando a temperatura de equilíbrio

(T_e); para um calor específico da água (C_A) de 1 cal/g.°C. O resultado obteve-se por meio da Equação 1.

$$C_C = \frac{M_1 * C_A * (T_e - T_1) - M_2 * C_A * (T_2 - T_e)}{(T_2 - T_e)} \quad \text{Eq. (1)}$$

Em seguida foi estimado o calor específico dos frutos de açaizeiro (c_p): 150 g de frutos (M_f), a uma dada temperatura (T_f), foram colocados no calorímetro, contendo água destilada a temperatura ambiente (T_1), considerando o balanço de calor durante o processo, o calor específico dos frutos foi calculado utilizando a Equação 2, em triplicata.

$$c_p = \frac{(C_C + M_1 * C_A) * (T_e - T_1)}{M_f * (T_f - T_e)} \quad \text{Eq. (2)}$$

Logo, a variação de entalpia dos frutos (ΔH) durante a fermentação espontânea dos frutos foi determinada através da Equação 3, conforme a variação entre a temperatura final e inicial (ΔT).

$$\Delta H = c_p * \Delta T \quad \text{Eq. (3)}$$

3.3.2 Taxa Respiratória

Esta análise foi realizada pelo método do sistema fechado (SAQUET e STREIF, 2002; SAMPAIO et al., 2007). Os frutos foram acondicionados em caixas de isopor hermeticamente fechadas. Os percentuais de O_2 e CO_2 no interior das caixas foram obtidos através de um sensor do medidor de gases Eurotron/Green Line 8000 (Milão, Itália) (Figura 19).



Figura 19. Aparato para medir a concentração de O_2 e CO_2 no interior das caixas de isopor.

As taxas respiratórias, em termos de O₂ e CO₂, foram obtidas através das Equações 4 e 5.

$$R_{O_2} = \left[\frac{(Go_2)_t - (Go_2)_{t+1}}{\Delta t} \right] * \frac{V}{M} \quad \text{Eq. (4)}$$

$$R_{CO_2} = \left[\frac{(Gco_2)_{t+1} - (Gco_2)_t}{\Delta t} \right] * \frac{V}{M} \quad \text{Eq. (5)}$$

Onde, R é a taxa respiratória de O₂ ou CO₂ (mL/kg.h), G é a fração percentual dos gases, t é o tempo (h), V é o volume livre nas caixas (mL) e M é a massa de frutos (kg).

3.3.3 Perda de Massa

Este parâmetro foi acompanhado pelo método gravimétrico através da variação da massa dos frutos durante seu período pós-colheita. Inicialmente foram pesados 1,8 kg de frutos em pequenas redes de material sintético, as quais foram colocadas no interior das caixas e do paniero, em meio aos outros frutos. As redes eram retiradas e pesadas em balança de 0,01g de precisão (Figura 20).



Figura 20. Acompanhamento da perda de massa dos frutos durante a fermentação.

Os resultados foram obtidos através da Equação 6.

$$\% PM = \frac{P_{inicial} - P_t}{P_{inicial}} * 100 \quad \text{Eq. (6)}$$

Onde:

%PM= Perda de massa em percentagem

P_{inicial}= Peso inicial das frações dos frutos (1,8 kg)

P_t= Peso final das frações dos frutos no tempo t (kg)

3.3.4 Microbiologia

3.3.4.1 Testes de Seletividade dos Meios de Cultura

Para avaliar a seletividade do meio Ágar MRS e para comparar as contagens das colônias em diferentes meios de cultura, três diferentes amostras de açaí, adquiridas em pontos comerciais da cidade de Belém-PA, foram plaqueadas em Ágar MRS (Man Rogosa Sharp) a 30°C por 72 horas (DOWNES e ITO, 2001; WEHR e FRANK, 2004) e em PCA (*Plate Count Agar*) a 36°C por 48 horas (VANDERZANT e SPLITTSTOESSER, 1992). Em seguida, 21 colônias foram isoladas, a partir do Ágar MRS, para serem submetidas às provas bioquímicas de coloração de gram (método de Huker) (BIER, SPLITTSTOESSER e TORTORELLO, 2001) e catalase (FUNG e PETRISHKO, 1973), para avaliação da seletividade deste meio de cultura.

No intuito de, também, avaliar a seletividade do meio Ágar GYC modificado (*Glucose-Yeast extract-Calcium carbonate*) a 30°C por 72 horas, a partir do descrito por Gullo e Giudici (2008) e Nielsen et al. (2007), o qual foi utilizado para as contagens de bactérias acéticas. Dezesesseis colônias foram isoladas de amostras do experimento (frutos acondicionados nas caixas) para a aplicação das provas bioquímicas supracitadas. O meio de cultura GYC modificado foi formulado da seguinte maneira: ágar (1,5%, m:v), glicose (5,0%, m:v), extrato de levedura (1,0%, m:v), carbonato de cálcio (2,0%, m:v), com adição de etanol (0,3%, v:v) e ácido acético (0,1%, v:v). O pH final foi de 5,71, dentro da faixa ótima de crescimento para o gênero *Acetobacter*, entre 5,4 e 6,3, segundo Hommel e Ahnert (2000). Cepas utilizadas para a produção de vinagre, geralmente *A. acidophilus*, são mais resistente a

meio ácido, entre 2,6 e 4,2. Em frutas ocorre uma flora variada e por isso o pH foi ajustado a 5,71.

Para evitar contaminação fúngica, cicloheximida foi adicionada na concentração de 100 mg/L nos meios de cultura Ágar MRS e GYC modificado.

3.3.4.2 Procedimento Analítico

Os açaís obtidos foram levados imediatamente para coleta e análise no Laboratório de Microbiologia dos Alimentos da UFPA. As contagens de bactérias mesófilas totais, bactérias lácticas e bactérias acéticas foram realizadas nas amostras acondicionadas nas caixas de isopor porque a condição de fermentação espontânea, decorrente das condições de transporte dos frutos nos porões dos barcos, dar-se-ia apenas nesta condição de baixas concentrações de oxigênio (microaerobiose) e não nos paneiros, onde havia aeração natural.

Após os testes de seletividade, os meios Ágar MRS e GYC modificado foram utilizados no experimento para as contagens de bactérias lácticas e acéticas (plaqueamento), respectivamente, nas mesmas condições de tempo e temperatura dos testes.

Os resultados obtidos foram calculados conforme o percentual resultante dos testes de seletividade.

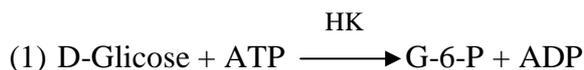
3.3.5 Determinação de Açúcares

Sacarose, D-glicose e D-frutose foram determinados através de kit enzimático Megazyme K-SUFRG (Bray, Irlanda) nas amostras acondicionadas em paneiro e nas caixas de isopor. Todas as amostras foram diluídas em água a 90°C, acondicionadas por 30 minutos sob refrigeração e, em seguida, filtradas em papel qualitativo Whatman nº4, com a finalidade de quebrar a emulsão óleo:água e facilitar a retirada do óleo presente nas amostras de açaí, como recomenda o fabricante do kit enzimático. Em seguida, as amostras foram submetidas às reações enzimáticas e leitura espectrofotométrica a 340nm em espectrofotômetro UV/Vis Biopharma Ultrospec (Manchester, Inglaterra).

A seguir apresenta-se o mecanismo de cada determinação.

3.3.5.1 D-Glicose

A pH 7,6, a hexoquinase (HK) catalisa a fosforilação de D-glicose pela adenosina-5'-trifosfato (ATP) à glicose-6-fosfato (G-6-P), com a formação simultânea de adenosina-5'-difosfato (ADP) (1).



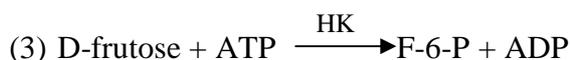
Na presença da enzima glicose-6-fosfato dehidrogenase (G6P-DH), G-6-P é oxidado pela nicotinamida-adenina dinucleotídeo fosfato (NADP^+) a gluconato-6-fosfato com a formação de nicotinamida-adenina dinucleotídeo fosfato reduzido (NADPH) (2).



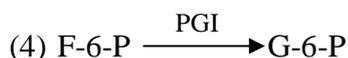
A quantidade de NADPH formado na reação é estequiométrica com o teor de D-glicose presente nas amostras. Então, o NADPH é medido pelo aumento da absorbância a 340 nm.

3.3.5.2 D-Frutose

A enzima hexoquinase também catalisa a fosforilação de D-frutose para frutose-6-fosfato (F-6-P) pela reação com adenosina-5'-trifosfato (ATP) (3).



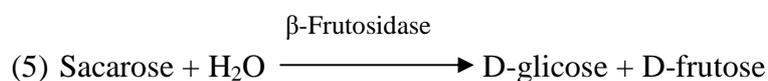
A F-6-P é posteriormente convertida a G-6-P pela Fosfoglicose Isomerase (PGI) (4).



Novamente G-6-P reage com NADP^+ formando gluconato-6-fosfato e NADPH, levando a um novo aumento na absorbância, que é estequiométrico com a quantidade de D-frutose presente nas amostras.

3.3.5.3 Sacarose

A pH 4,6, a sacarose é hidrolisada pela β -frutosidase (invertase) liberando D-glicose e D-frutose (5).



A D-glicose na amostra, resultante desta hidrólise (D-glicose total), é determinada como descrito anteriormente. O conteúdo de sacarose é calculado a partir da diferença entre a concentração de D-glicose antes e depois da hidrólise pela β -frutosidase.

3.3.6 Identificação e Quantificação de Produtos da Fermentação

3.3.6.1 Taxa de Recuperação do Ácido Lático

Para o ácido lático, verificou-se em testes preliminares que o seu sinal analítico era baixo quando diluído e injetado em água (solvente), portanto as amostras de açaí foram submetidas à centrifugação (3200 rpm/15min) e liofilização a -70°C e 200 μmHg durante 48 horas (SÖDERGÅRD e STOLT, 2002) em equipamento Vir Tis BT4KXL-75 (Winchester, Inglaterra), sendo, em seguida, reconstituídas em acetona acidificada com ácido clorídrico (0,37%, v:v).

A fim de se avaliar possíveis perdas durante as duas etapas, fez-se necessário realizar um teste para avaliar possíveis perdas durante estes tratamentos. Então, preparou-se uma solução padrão de ácido lático em água ultrapura a 2,411 mg/mL, sendo adicionado 1 mL desta solução em 45mL de três amostras de açaí adquiridas em três pontos comerciais de Belém-PA. Em seguida, as amostras foram submetidas às etapas de centrifugação e liofilização e, posteriormente, injetadas no cromatógrafo gasoso, conforme descrito no subtópico 3.3.6.2. Para cada amostra foi realizado um branco.

3.3.6.2 Procedimento Analítico

As amostras de açaí obtidas pelo despolpamento mecânico foram diluídas diretamente em acetona acidificada com ácido clorídrico (0,37%, v:v) para identificação e quantificação dos AGCC e etanol, conforme descrito por Pinto et al. (2006). Todas as amostras diluídas foram filtradas em filtros de 0,45 μm da Vertical Chromatography (Bangkok, Tailândia) para injeção manual (1 μL) em cromatógrafo gasoso Shimadzu GC 2010 (Kyoto, Japão).

O cromatógrafo gasoso foi equipado com uma coluna ZB-Wax (60 m x 0,25 mm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura de filme de polietileno glicol), detector de ionização de chama e injeção no modo split, com razão de 1:10. Hélio foi utilizado como gás de arraste (99,999% pureza, Linde Gás LTDA). A rampa de temperatura da coluna foi programada da seguinte forma: 100°C a 150°C com taxa de 6°C/min, seguindo até 200°C com taxa de 10°C/min e mantida a esta temperatura por 2 minutos, para os AGCC e ácido láctico e; 50°C a 130°C com taxa de 6°C/min, para o etanol. Em ambos os métodos, as temperaturas do injetor e detector foram programadas para 240°C e 260°C, respectivamente (NOGUEIRA, LUBACHEVSKY e RANKIN, 2005; LI, CHEN e GU, 2008; SABATINI, MUCCIARELLA e MARSILIO, 2008 e BRUNETTO et al., 2009)

Os compostos de interesse foram selecionados segundo a revisão bibliográfica realizada no subtópico 2.3.2.4 e apresentada no Quadro 2. Para a identificação dos picos, comparou-se os tempos de retenção (t_R) e coeluiu-se com compostos padrões comerciais, e por co-eluição das amostras com estes padrões (etanol – Tedia, Fairfield, OH, e ácidos láctico, acético, propiônico, butírico, valérico e caprótico, Sigma-Aldrich[®], Steinheim, Germany). Os resultados quantitativos foram obtidos por integração da área dos picos através de curvas de calibração construída para cada composto (Tabela 3) por meio do Software GCSolution Release 2.30 (Tóquio, Japão).

Tabela 3. Dados utilizados para a quantificação dos produtos da fermentação por Cromatografia Gasosa (CG).

Compostos	t_R (min)	Faixa Concentração (µg/mL)	Equação da Reta ^a	R^2
Etanol	5,87	46-460	$y = 6,517 \cdot 10^{-4}x + 0,046$	0,999
Ác. láctico	6,93	23-676	$y = 2,263 \cdot 10^{-3}x - 1,492$	0,999
Ác. acético	8,81	26-778	$y = 2,196 \cdot 10^{-3}x - 16,420$	0,999
Ác. propiônico	10,14	15-444	$y = 1,287 \cdot 10^{-3}x + 5,740$	0,998
Ác. butírico	11,50	15-457	$y = 9,999 \cdot 10^{-4}x + 6,153$	0,998
Ác. valérico	13,00	14-411	$y = 8,806 \cdot 10^{-4}x + 9,233$	0,998
Ác. caprótico	14,56	14-419	$y = 6,833 \cdot 10^{-4}x + 0,669$	0,999

^a y é a concentração (µg/mL) e x é a área relativa dos picos.

3.4 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR CLAE

O impacto das duas condições estudadas (caixas de isopor fechados e painel aberto) sobre o teor dos quatro compostos fenólicos mais abundantes no açaí (cianidina 3-glicosídeo, cianidina 3-rutinosídeo, homorientina e orientina) foi avaliado por um sistema CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) Shimadzu série LC-10Avp (Tóquio, Japão), equipado com degaseificador (DGU-14 A), bomba quaternária para gerar gradiente, auto-injetor (SIL-10AF), forno para coluna (CTO-10 AS), coluna em fase reversa tipo Kinetex Core-Shell da Phenomenex[®] (100 mm x 4,6 mm, Torrance, EUA) empacotada com partículas de C₁₈, com 2,6 µm de diâmetro, acoplada a uma pré-coluna Gemini C₁₈ (3,0 × 4,0 mm) (Phenomenex[®], Torrance, EUA) e software Class-VP.

A fase móvel foi composta de 1% ácido fórmico em água ultrapura (v:v) (Solução A) e 1% ácido fórmico em acetonitrila (v:v) (Solução B), adaptado do trabalho de Souza (2007). O gradiente estabelecido apresenta-se na Tabela 4, para um tempo de análise de 20 minutos.

Tabela 4. Gradiente da fase móvel estabelecido para análise em CLAE dos compostos fenólicos.

Tempo (min)	Solução A	Solução B
0-0,01	95%	5%
0,01-5,00	90%	10%
5,00-10,00	85%	15%
10,00-13,00	50%	50%
13,00-17,00	30%	70%
17,00-20,00	95%	5%

A fase móvel foi filtrada através de membrana de nylon com 0,45µm de porosidade. O fluxo utilizado foi de 1mL/min e o volume de injeção foi de 20µL; a temperatura da coluna foi mantida termostatizada a 30°C. A identificação e quantificação de cada composto foram realizadas utilizando um detector de arranjo de diodos (DAD) (SPD-M20A; Shimadzu, Tóquio, Japão), o qual monitora todos os comprimentos de onda na faixa de 200 a 600 nm. Os picos foram identificados baseando-se nos tempos de retenção e por comparação com os espectros padrões.

Para a quantificação, curvas de calibração foram construídas, utilizando padrões comerciais da Extrasynthèse (Lyon, França). Todos os pontos da curva foram realizados em triplicata e a concentração dos compostos foi expressa em mg/L (Tabela 5).

Tabela 5. Dados utilizados para a quantificação dos compostos fenólicos.

Compostos	t_R (min)	Faixa Concentração (mg/L)	Equação da Reta ^a	R^2
Cianidina 3-Glicosídeo	7,82	2,52–31,48	$y = 2 \cdot 10^{-5}x + 0,1728$	0,9995
Cianidina 3-Rutinosídeo	8,57	2,90–45,29	$y = 4 \cdot 10^{-5}x + 0,2895$	0,9998
Homorientina	9,72	10,00–50,00	$y = 6 \cdot 10^{-5}x + 2,3571$	0,9964
Orientina	10,12	16,66–66,66	$y = 8 \cdot 10^{-5}x + 3,3344$	0,9988

^a y é a concentração (mg/L) e x é a área relativa.

3.5 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Os resultados apresentados como Média±DP (Desvio Padrão) foram obtidos pelo software Microsoft Office Excel 2007 e as análises de regressão foram realizadas através do software Statistica versão Kernel 7.0 (Statsoft Inc., 2006, Tulsa, OK), ambos sob Windows Vista Basic.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CALOR ESPECÍFICO DOS FRUTOS E ENTALPIA DA FERMENTAÇÃO

As amostras de frutos oriundas de três localidades diferentes apresentaram um valor de calor específico (c_p) de $3,15 \pm 0,10$ kJ/kg.°C (Tabela 6). Pompeu, Barata e Rogez (2009) encontraram um calor específico de $3,84 \pm 0,08$ kJ/kg.°C para frutos de açazeiro oriundos do distrito de Outeiro (Belém-PA). Possivelmente, o fator tempo pós-colheita influenciou nesta variação de resultados, pois os frutos de Outeiro-PA foram coletados e analisados em intervalo de tempo de 4 horas, enquanto neste estudo chegou a ocorrer em intervalo de 10 horas.

Os valores obtidos neste estudo também estão na mesma faixa daqueles encontrados por Ribeiro et al. (2002), os quais determinaram o c_p das seguintes frutas: mangaba (3,88 kJ/kg.°C), acerola (3,70 kJ/kg.°C), uva tipo Itália (3,71 kJ/kg.°C), cajú (3,69 kJ/kg.°C), seriguela (3,23 kJ/kg.°C), umbú (4,13 kJ/kg.°C), manga Espada (3,45 kJ/kg.°C) e banana (2,96 kJ/kg.°C); e por Araújo, Queiroz e Figueiredo (2004) para polpa de cupuaçú integral (3,24 kJ/kg.°C). O teor de umidade é o principal responsável pelas propriedades térmicas dos alimentos. Os frutos do açazeiro apresentam 58,82% de umidade (ROGEZ, 2000), o que justifica o menor valor encontrado (Tabela 6), uma vez que as frutas estudadas por Ribeiro et al. (2002) apresentaram umidades superiores a 62,00 %.

Tabela 6. Valores de calor específico (c_p) para os frutos de *E. oleracea*.

Amostra	c_p (kJ/kg.°C)
Frutos 1	3,26
Frutos 2	3,11
Frutos 3	3,08
Média±DP	$3,15 \pm 0,10$

O valor médio de c_p foi usado para calcular a entalpia da fermentação dos frutos acondicionados em caixas fechadas, conforme a Equação 3 (p. 48). Considerando a pressão constante, o resultado obtido foi de 13,54 kJ/kg de fruto para um $\Delta T_{\text{máximo}}$ de 4,30 °C, depois de 7 horas nas caixas de isopor (Figura 21). Este resultado reflete um processo exotérmico altamente energético. Justifica-se este alto valor pela alta taxa respiratória, elevado teor de lipídeos e fibras, bom teor de proteínas, e alta carga microbiana, onde as bactérias liberam

energia através de seu metabolismo. Segundo Chitarra e Chitarra (2005), no caso de material vegetal, as fibras ainda podem ser hidrolisadas pela ação bacteriana e enzimática, liberando açúcares simples e disponibilizando substrato para o processo fermentativo.

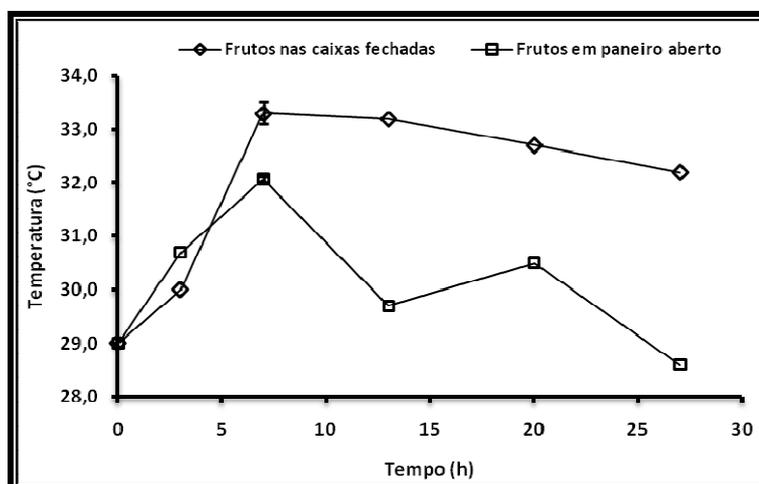


Figura 21. Evolução da temperatura dos frutos de *E. oleracea* acondicionados em caixas fechadas e em painel aberto.

Os frutos acondicionados no painel apresentaram uma variação de temperatura máxima de 3,1°C, também no tempo de 7 horas, resultando em uma variação de entalpia de 9,76 kJ/kg de fruto. Portanto, a maior variação de temperatura obtida nos frutos acondicionados nas caixas de isopor resultou em uma maior dissipação de energia.

Em porões de barcos, esta dissipação de energia torna-se ainda mais importante, quantitativamente, porque os frutos estão em grandes quantidades (~ 1000 kg/barco).

4.2 PERDA DE MASSA DOS FRUTOS

A transpiração é influenciada por fatores inerentes ao fruto, tais como características morfológicas e anatômicas, grau de maturação, danos físicos e/ou mecânicos, bem como por fatores ambientais como temperatura e umidade relativa. Os processos metabólicos de produtos tropicais ocorrem em taxas substancialmente mais elevadas do que em produtos de clima temperado, em função da temperatura e umidade mais elevadas (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

A perda de massa dos frutos de *E. oleracea* em caixas fechadas (0,28% em 27 horas) foi menor do que nos acondicionados em painel aberto (1,67% em 27 horas) (Figura 22),

pois os frutos no panoiro estavam em maior contato com o ar atmosférico e suas correntes, o que causou maior evaporação de água, obtida pelo processo de transpiração dos frutos. Considera-se, também, que o teor de água livre dos frutos é menor do que a umidade relativa do ambiente, o que favoreceu a transferência de massa dos frutos para o ambiente, enquanto que no interior das caixas este fenômeno não foi favorecido, pois havia condensação de vapor d'água pelas paredes.

Além disso, a oxidação completa dos açúcares pelas bactérias, em água e gás carbônico, se dá em meio aeróbico (SOLIERI e GIUDICI, 2009), portanto, tem-se maior perda de biomassa.

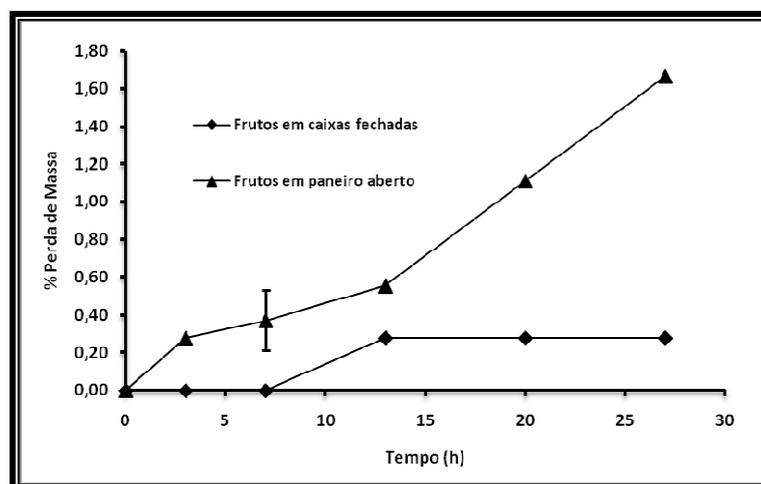


Figura 22. Evolução da perda de massa dos frutos de *E. oleracea* nas duas condições.

Chitarra e Chitarra (2005) citam que perdas de massa em frutas, por processo respiratório, da ordem de 3% a 6% são suficientes para causar um marcante declínio na qualidade dos mesmos. Em frutos de *E. oleracea*, Pompeu, Barata e Rogez (2009) observaram uma perda de massa da ordem de 3,5% em 44 horas a 30°C, porém os frutos foram acondicionados em ambiente com circulação de ar.

4.3 TAXA RESPIRATÓRIA

O processo de respiração é primordialmente um processo oxidativo, que aumenta os níveis de dióxido de carbono e água, com liberação de energia, principalmente na forma de ATP, sendo essa energia química requerida para a realização dos vários processos anabólicos e catabólicos dos frutos. Após a colheita este processo não é tão eficiente, uma vez que não é

suprido pelo processo fotossintético. Então, o vegetal utiliza as matérias orgânicas acumuladas (carboidratos, proteínas, lipídeos) para a obtenção de energia através do processo respiratório (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Para os frutos do açaizeiro acondicionados nas caixas de isopor hermeticamente fechadas, a taxa respiratória apresentou-se característica de frutos não-climatéricos, em temperatura de $31,7 \pm 1,8^\circ\text{C}$, para os quais a atividade respiratória é baixa e constante, com ligeiro declínio após a colheita, sem apresentar pico climatérico (CHITARRA e CHITARRA, 2005). Entretanto, apresentou semelhança com a da banana variedade *martaman* a 20°C (BHANDE, RAVINDRA e GOSWAMI, 2008) (Figura 23) e não apresentou semelhança com respiração de frutas temperadas, como maçã, caqui, quiuí e pêsego, as quais apresentam picos ou aumento da taxa de gás carbônico (STEFFENS et al., 2007).

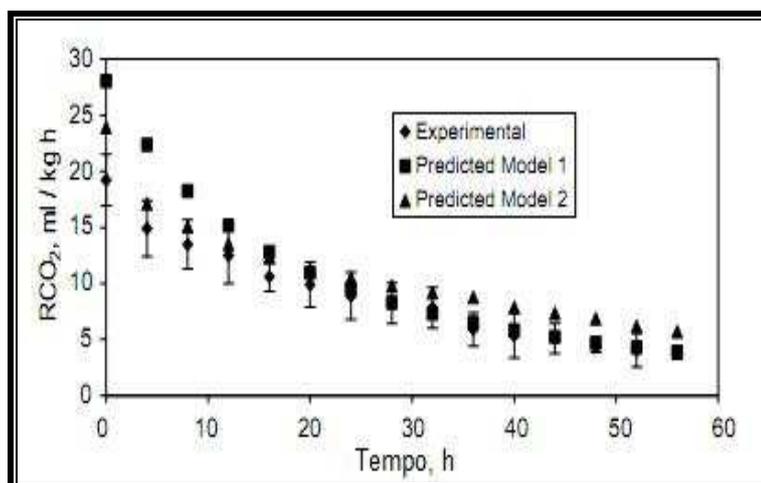


Figura 23. Taxa respiratória de banana *martaman* a 20°C . Fonte: Bhande, Ravindre e Goswami (2008).

Os resultados indicam que o açaí é um fruto de atividade respiratória relevante, dentre os não climatéricos, alcançando nas primeiras 3 horas uma taxa de $27,02 \text{ mL CO}_2/\text{kg.h}$ (Figura 24). Chitarra e Chitarra (2005) citam que frutas não-climatéricas, como foi observado em laranjas e pomelo, e climatéricas podem apresentar atividade respiratória semelhante, quando uma série cronológica de amostras é colhida e analisada ou em uma idade fisiológica e condições de armazenamento mais apropriadas.

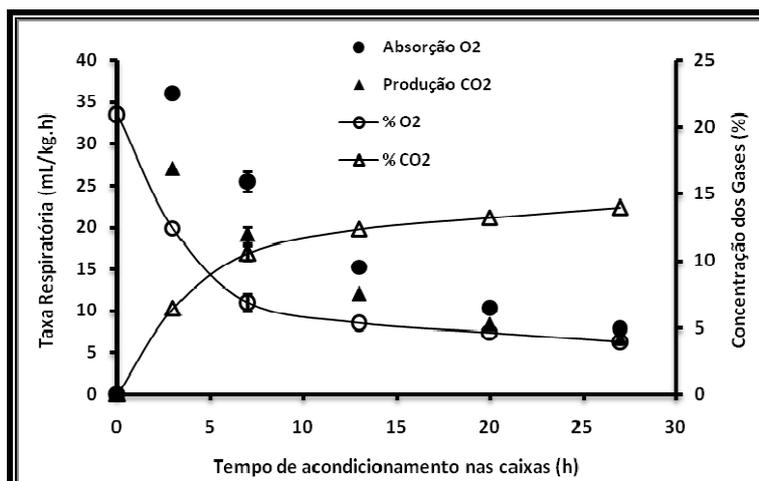


Figura 24. Taxa respiratória dos frutos de *E. oleracea* e concentração de O₂ e CO₂ (%) nas caixas hermeticamente fechadas.

A influência da respiração dos frutos sobre a fermentação é verificada na medida em que o meio fica microaeróbico ($\leq 10\%$ de O₂), com produção de CO₂ pelos frutos. Desde que os frutos foram acondicionados nas caixas de isopor, o teor de O₂ diminuiu drasticamente até permanecer praticamente constante depois de 7 horas. Este fato favoreceu o catabolismo dos açúcares pela via fermentativa das bactérias, produzindo compostos orgânicos característicos da fermentação, como por exemplo, etanol e ácidos orgânicos (FRANCO e LANDGRAF, 1996; HASHIZUME, 2008).

4.4 MICROBIOLOGIA DOS FRUTOS

4.4.1 Testes de seletividade dos meios de cultura

O teste realizado, em três amostras comerciais de açaí, mostrou que as quantificações, em média, foram próximas para os grupos de bactérias lácticas e mesófilas (Tabela 7), o que está de acordo com o que foi obtido por Wu e Fung (2006).

Tabela 7. Teste sobre as contagens de bactérias mesófilas e lácticas do açaí.

Amostras de Açaí	Bactérias Mesófilas (UFC/mL)	Bactérias Lácticas (UFC/mL)
Amostra A	$2,6 \times 10^7$	$3,9 \times 10^7$
Amostra B	$7,9 \times 10^7$	$9,4 \times 10^7$
Amostra C	$1,3 \times 10^8$	$6,8 \times 10^6$
Média	$7,8 \times 10^7$	$4,7 \times 10^7$

Objetivando a maior confiabilidade dos resultados, 21 colônias das três amostras de açaí foram isoladas para realização das provas bioquímicas de coloração de gram e catalase. O resultado inferiu que 67% (n=14) das colônias foram caracterizadas como bactérias lácticas (Quadro 3), as quais são gram positivas e catalase negativas. Diante disso, os resultados expressos nas manipulações, levaram em consideração este percentual obtido.

Quadro 3. Provas bioquímicas realizadas sobre colônias isoladas de açaí inoculado em Ágar MRS.

Colônias	Teste da Catalase	Coloração de Gram
1	+	-
2	-	+
3	-	-
4	-	+
5	-	-
6	-	+
7	-	-
8	-	+
9	-	-
10	-	-
11	-	-
12	-	+
13	-	+
14	-	+
15	-	+
16	-	+
17	-	+
18	-	+
19	-	+
20	-	+
21	-	+

Linhas em cinza são as colônias caracterizadas como bactérias lácticas.

O meio de cultura Ágar GYC modificado apresentou uma seletividade de 18,75% (n=3) (Quadro 4) após a realização das provas bioquímicas sobre as 16 colônias isoladas a partir de amostras de açaí do experimento, as foram caracterizadas como gram negativas e catalase positivas. Portanto, com este percentual, fez-se uma correção sobre as contagens realizadas nas amostras experimentais.

Quadro 4. Provas bioquímicas realizadas em colônias isoladas de açaí inoculado em Ágar GYC modificado.

Colônias	Teste da Catalase	Coloração de Gram
1	-	+
2	-	+
3	-	-
4	+	-
5	-	+
6	-	+
7	+	-
8	-	-
9	-	+
10	+	+
11	-	+
12	-	+
13	-	+
14	-	-
15	+	-
16	-	+

Linhas em cinza são as colônias caracterizadas como bactérias acéticas.

4.4.2 Carga Bacteriana do Açaí

Como foi verificado por Wu e Fung (2006) em pickles chineses com diferentes concentrações de sal e por Audenaert et al. (2010) em produtos cárneos cozidos embalados sob atmosfera modificada, os frutos acondicionados em caixas fechadas apresentaram carga semelhante de bactérias mesófilas e lácticas (Figura 25).

Wu e Fung (2006) ainda testaram a seletividade dos meios de cultura MRS, usado no presente experimento, e KF (Kang-Fung) para bactérias lácticas, e concluíram que o meio MRS é bem menos seletivo, 10,4% contra 49,7% do KF, sendo que o MRS é especialmente usado para contagem de *Lactobacillus* spp. Eles citam que vários outros tipos de microrganismos podem crescer neste meio de cultura, em função dos seus componentes nutritivos. Entretanto, o meio MRS é o mais comumente usado no meio científico para contagem de bactérias lácticas.

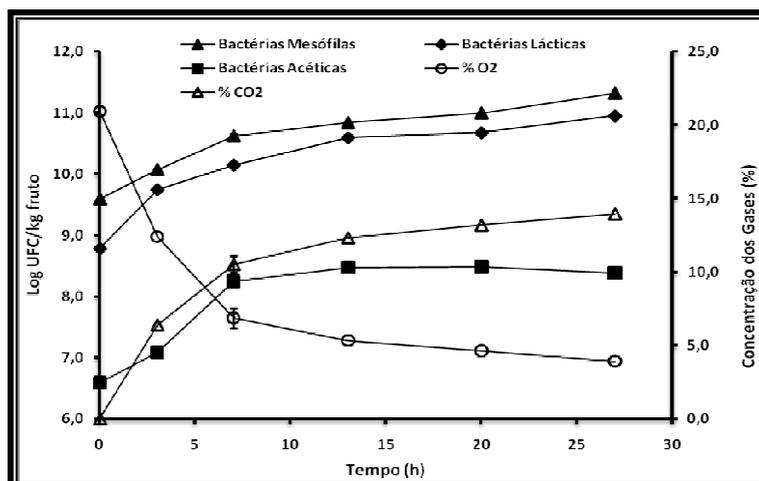


Figura 25. Evolução da carga bacteriana fermentativa dos frutos do açazeiro acondicionados em caixas fechadas e as concentrações de O₂ e CO₂.

Verifica-se na Figura 25 que, no interior das caixas, a condição de microaerobiose favoreceu o crescimento das bactérias lácticas, as quais podem produzir proteínas chamadas de bacteriocinas, que inibem o crescimento de outros grupos de bactérias (HELANDER, WRIGHT e MATTILA-SANDHLON, 1997), como as acéticas, que são aeróbias e não encontraram condições favoráveis para seu crescimento a partir de 7 horas dentro das caixas, uma vez que a concentração de O₂ era de $6,87 \pm 0,68\%$. O tempo de 7 horas foi determinante no crescimento dos três grupos de bactérias, onde a partir deste tempo o crescimento foi discreto (mesófilas e lácticas) ou estabilizado (acéticas). Estas bacteriocinas poderiam justificar a predominância da flora láctica no açaí.

Rodriguez et al. (2009) relatam que bactérias lácticas se adaptam bem às características intrínsecas de material alimentício fresco. A fermentação espontânea, tipicamente, resulta de competições de uma variedade de microrganismos autóctones e contaminantes, e aqueles que se adaptam melhor, serão predominantes neste tipo de processo.

Estes resultados corroboram com Stratford et al. (2000) *apud* ICMSF (2005), os quais citam que bactérias acéticas são capazes de crescerem em ambientes com baixos níveis de nutrientes. Entretanto, este grupo de bactérias encontra-se normalmente em níveis menores do que as lácticas na fermentação de frutas e sucos de frutas (MASSAGUER, 2005). Em amêndoas de cacau da Indonésia, Ardhana e Fleet (2003) verificaram uma sucessão microbiana na seguinte ordem: leveduras, bactérias lácticas e bactérias acéticas.

4.5 DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES E PRODUTOS DA FERMENTAÇÃO

4.5.1 Taxa de Recuperação do Ácido Láctico

Para a quantificação do ácido láctico foi necessário submeter os açaís obtidos às etapas de centrifugação e liofilização, no intuito de concentrar este composto e quantificá-lo por CG. Portanto, para assegurar a validade desta quantificação foi realizado o teste de taxa de recuperação para este composto no açaí. O resultado apresentado na Tabela 8 valida a metodologia utilizada, uma vez que a taxa de recuperação do ácido láctico foi, em média, de $101,88 \pm 8,84\%$, ou seja, não há perdas durante a centrifugação e a liofilização.

Tabela 8. Taxa de recuperação de ácido láctico determinada no açaí.

Amostras	Quant. Inicial (μg)	Quant. Adicionada (μg)	Quant. Encontrada (μg)	TR (%)
Amostra A	0	2411	2626	108,91
Amostra B	750	2411	2968	91,96
Amostra C	150	2411	2676	104,77
Média				101,88
DP				8,84

Quant.- Quantidade; TR- Taxa de Recuperação; DP- Desvio Padrão

4.5.2 Resultados Analíticos

De acordo com os resultados obtidos, os açúcares simples D-glicose e D-frutose foram os únicos quantificáveis, estando de acordo com o que já verificaram Schauss et al. (2006) e Rogez (2000), os quais relatam um teor de sacarose muito baixo ou inexistente. Dentre os produtos de processos fermentativos identificados e quantificados por CG, o etanol (Figura 26), o ácido láctico e o ácido acético (Figura 27) foram os únicos compostos identificados no açaí, daqueles listados na Tabela 3, o que evidencia as fermentações alcoólica, láctica e acética nos frutos.

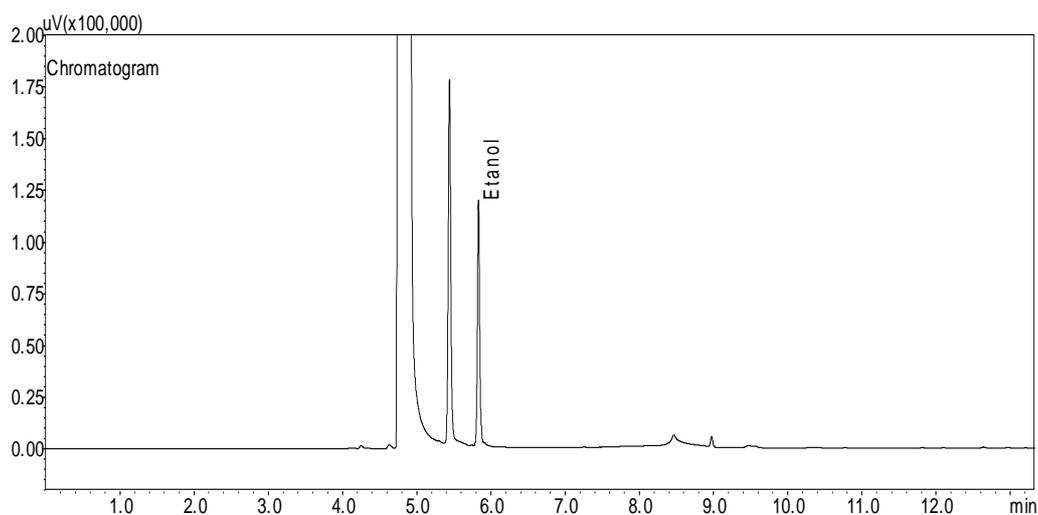


Figura 26. Identificação de etanol nas amostras de açai por cromatografia gasosa.

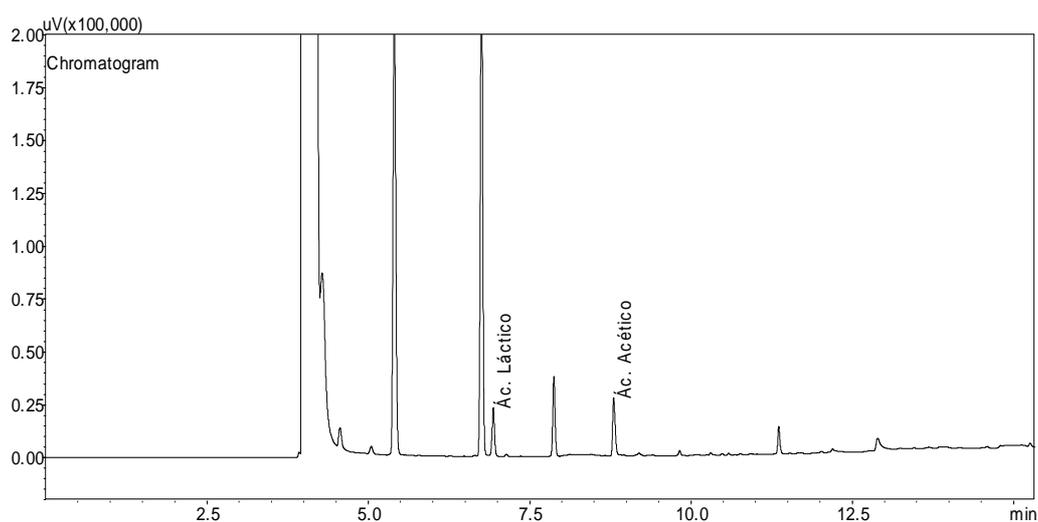


Figura 27. Identificação de ácido láctico e ácido acético nas amostras de açai por cromatografia gasosa.

A fermentação alcoólica é a mais pronunciada nas duas condições (Figura 28 e Figura 29). O ambiente microaeróbico das caixas de isopor fechadas favoreceu a produção de etanol pelas leveduras, as quais encontram-se em grandes quantidades nos frutos do açazeiro, conforme já relatou Rogez (2000). Franco e Landgraf (1996) citam que a temperatura, entre 15-35°C, é mais importante do que a composição do alimento para o desenvolvimento de leveduras e sua produção de sabores e odores desagradáveis, e os frutos do açazeiro neste

estudo estavam entre 29,0-33,3°C nas caixas fechadas (Figura 21, p. 58), temperaturas consideradas ótimas para as atividades metabólicas fúngicas.

Além das leveduras, há a contribuição das bactérias lácticas heterofermentativas (ver Figura 13B, p. 32) e acéticas, na produção de pequenas quantidades de etanol a partir de glicose, favorecidas pela faixa de temperatura dos frutos (FRANCO e LANDGRAF, 1996; MASSAGUER, 2005).

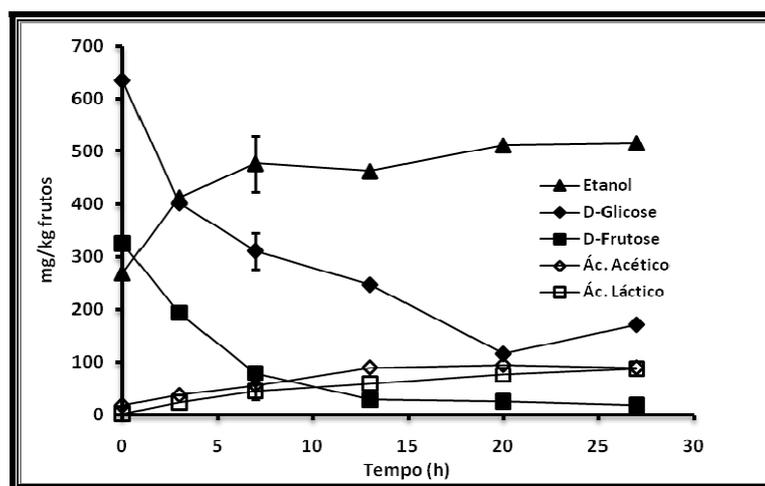


Figura 28. Teores dos compostos orgânicos nos frutos de açaizeiro acondicionados nas caixas de isopor fechadas.

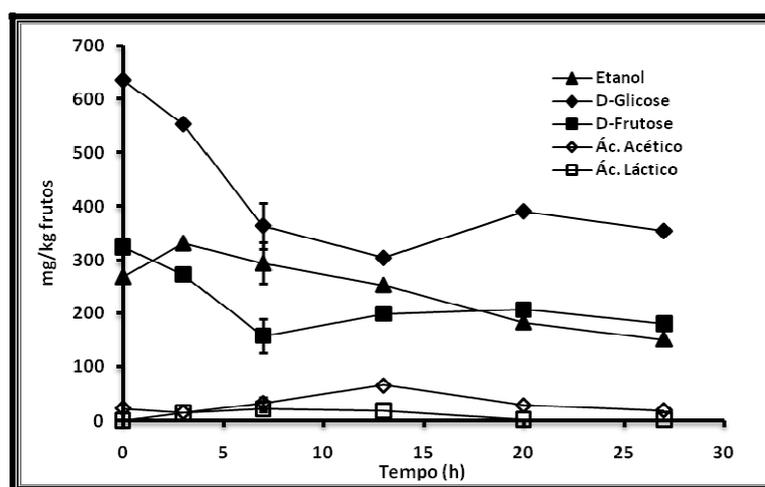


Figura 29. Teores dos compostos orgânicos nos frutos de açaizeiro acondicionados em painel aberto.

Nos frutos acondicionados no paneiro aberto (Figura 29), percebeu-se um decaimento no teor de etanol após 3 horas, causado, provavelmente, pela evapotranspiração dos frutos. No decorrer da cinética, a pilha de frutos diminuiu pela retirada de amostras, e isso facilitava uma maior circulação de ar no paneiro. Este fato pode explicar uma pequena elevação no teor deste composto em 3 horas, uma vez que ainda existiam microrregiões, principalmente no centro do paneiro, menos providas de aeração natural.

Pelos resultados apresentados nas Figura 28 e Figura 29, os açúcares são os primeiros substratos consumidos durante o processo fermentativo. Infere-se um forte consumo de D-glicose e D-frutose pelos microrganismos nos frutos acondicionados nas caixas fechadas (Figura 28), uma vez que obteve-se redução de 82% de D-glicose e 95% de D-frutose. Enquanto que no paneiro aberto este consumo ocorreu de forma mais tênue (Figura 29), com reduções de 52% no teor de D-glicose e 39% para a D-frutose.

Para uma melhor visualização dos teores dos ácidos durante a fermentação, a Figura 30 e Figura 31 são apresentadas a seguir. Nelas evidenciou-se que, em ambas as condições, houve a ocorrência concomitante da fermentação láctica e acética, sendo maior a produção desses ácidos nos frutos acondicionados nas caixas fechadas do que naqueles acondicionados no paneiro. Portanto, a produção de ácidos orgânicos (láctico e acético) sendo favorecida em ambiente microaeróbico (caixas fechadas) do que em ambiente com aeração (paneiro). Os dados experimentais dos frutos acondicionados nas caixas fechadas ajustaram-se melhor ao modelo logarítmico (Figura 30).

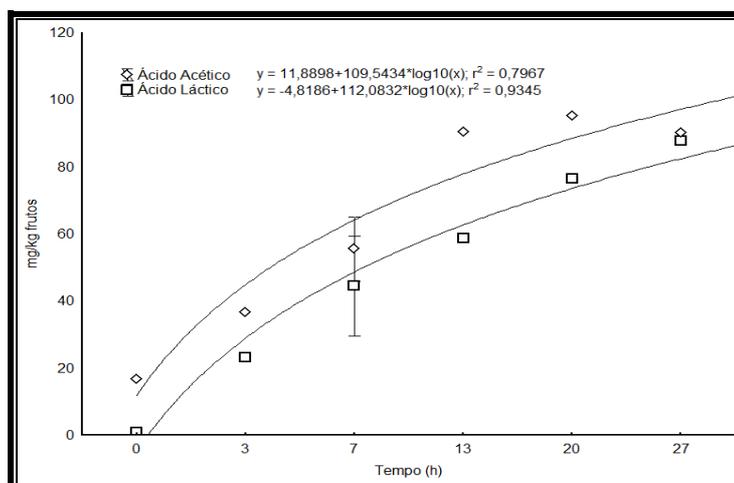


Figura 30. Produção de ácido acético e ácido láctico durante a fermentação espontânea dos frutos de *E. oleracea* acondicionados em caixas de isopor fechadas.

A produção de ácido láctico pelas bactérias lácticas é favorável em ambientes com baixas concentrações de oxigênio, o que está de acordo com o metabolismo dessas bactérias, as quais são anaeróbias facultativas (FRANCO e LANDGRAF, 1996), uma vez que os resultados da atividade respiratória mostram uma concentração de oxigênio aproximada de 5% nas caixas após 7 horas (Figura 24, p. 61).

Os frutos acondicionados no paneiro sofreram, a partir de 17 horas, uma queda da atividade bacteriana, evidenciada pela queda de produção de ácido acético e láctico (Figura 31). Pode-se relacionar este fato, dentre outros fatores, com a perda de massa dos frutos, a qual torna-se maior justamente a partir de 17 horas, sendo que esta perda de massa configura-se principalmente pela perda de água, causando o ressecamento dos frutos. Outra hipótese é que ambos os ácidos podem ser oxidados a água e gás carbônico, como descrevem Zak, Ostovar e Keeney (1972), uma vez que há a presença de oxigênio como acceptor final de elétrons. Outro fator importante que ocorreu foi a queda dos teores de D-glicose e D-frutose nos frutos.

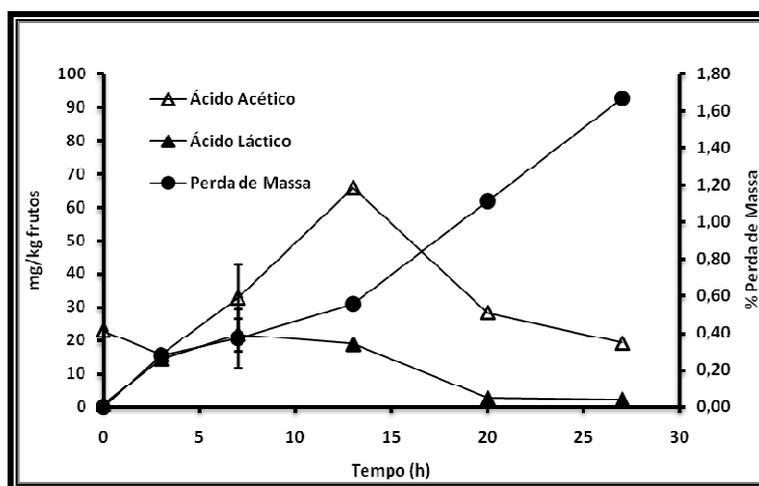


Figura 31. Produção de ácido acético e láctico relacionados com a perda de massa dos frutos de *E. oleracea* acondicionados em paneiro aberto.

Com estes resultados obtidos, pode-se afirmar que o tempo e o modo de transporte dos frutos de *E. oleracea* são fatores de forte influência na qualidade sensorial e microbiológica do produto final, o açaí, altamente comercializado de forma artesanal na região Amazônica. Pessoas que trabalham nesse ramo (batedores) relatam que os frutos transportados em ambiente aberto, por exemplo, na proa ou na popa dos barcos, onde há circulação de ar, produzem açaí com melhor sabor do que aqueles transportados em ambientes fechados, como

nos porões dos barcos, os quais resultam em açais com *azedume* (dados de campo). Logo, os resultados deste estudo condizem com este relato popular.

Rogez (2000) já relatou que este atributo sensorial indesejável não poderia ter relação com o pH do açai. Então tornou-se relevante o conhecimento dos limites de detecção sensorial dos ácidos detectados no açai neste estudo. Segundo Schönberger, Krottenthaler e Back (2002), o limite de detecção de palatabilidade de ácido acético é 54,05 mg/L e do ácido láctico é 133,20 mg/L, ambos em água a pH entre 6 e 7. Em água com pH de 4,3 estes limites diminuem para 33,50 mg/L e 15,10 mg/L, respectivamente.

Em geral, o pH do açai está em torno de 5,0-5,5. Comparando com os valores em água a pH 6-7, os resultados obtidos indicam que, em condições com baixa aeração, em 7 horas ($55,46 \pm 10,15$ mg/kg fruto) os frutos atingem o limite de detecção de palatabilidade para o ácido acético, composto caracterizado como um líquido pungente. Em ambientes com maior aeração, este limite é alcançado em 13 horas (65,79 mg/kg fruto), pela menor atividade bacteriana. Lembrando que os frutos foram despolpados, neste estudo, na relação 1:1 (água:fruto) (ver subtópico 3.2), logo estas concentrações são muito próximas daquelas encontradas nos sucos de açai obtidos.

4.6 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR CLAE

Os compostos fenólicos são os constituintes de maior apelo mercantil do açai, nos dias atuais, pelas suas propriedades funcionais. As cianidinas 3-glicosídeo (C-3G) e 3-rutinosídeo (C-3R) são os fenólicos mais abundantes (30% dos compostos fenólicos totais). Pacheco-Palencia, Duncan e Talcott (2009) descrevem que dentre os não-antociânicos, orientina e homorientina são os majoritários (~10% compostos fenólicos totais). Então, o impacto da fermentação espontânea ocorrida nos frutos do açazeiro no período pós-colheita foi avaliado sobre estes quatro compostos fenólicos majoritários do açai.

Em condições de microaerobiose (Figura 32), depois de 27 horas, houve uma redução de 78% no teor de C-3R e de 88% no teor de C-3G. Sobre os teores de homorientina e orientina, as reduções foram de 78% e 72%, respectivamente. Nos frutos acondicionados no paneiro aberto, C3-G sofreu uma redução de 66% e a C3-R reduziu em 58%. Homorientina e orientina diminuíram seus teores em 73% e 62% dos seus teores iniciais (Figura 33).

Interessantemente, os frutos em caixas de isopor sofreram reduções logarítmicas para todos os quatro compostos fenólicos, com coeficientes de determinação entre 0,69 e 0,88 ($p < 0,05$) (Figura 32). Através deste comportamento, presume-se que há uma correlação com o desenvolvimento bacteriano, o qual foi maior nesta condição. Machado (2005) cita que as bactérias mesofílicas podem utilizar os compostos fenólicos como fonte de carbono e energia. Além deste fato, os compostos fenólicos poderiam ter se difundido na água de transpiração dos frutos, recondensada nas paredes das caixas de isopor, além da temperatura média ter sido maior nas caixas ($31,7 \pm 1,8^\circ\text{C}$).

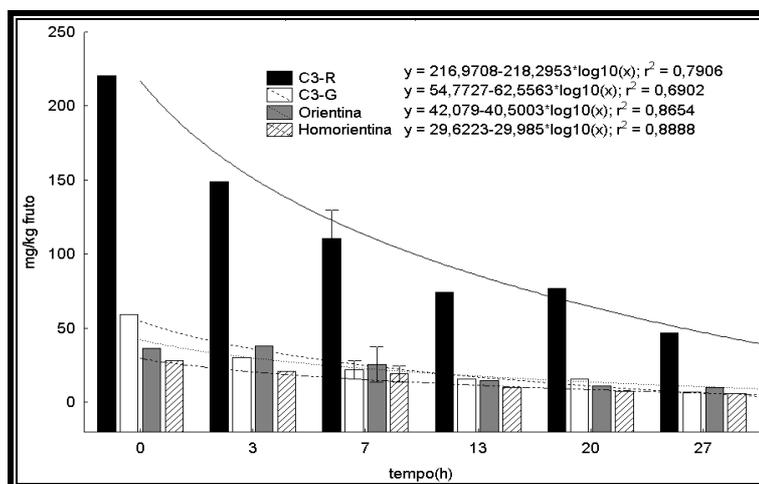


Figura 32. Teores dos compostos fenólicos majoritários dos frutos de *E. oleracea* acondicionados em caixas de isopor fechadas durante 27 horas.

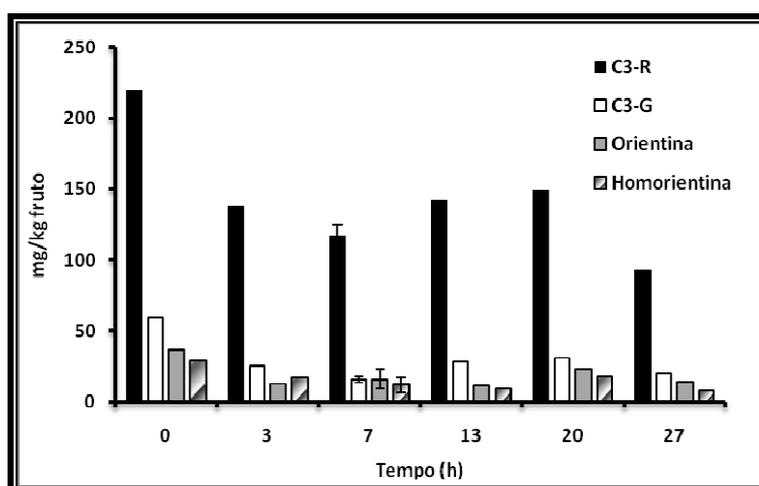


Figura 33. Teores dos compostos fenólicos majoritários dos frutos de *E. oleracea* acondicionados em paniero aberto durante 27 horas.

Esta redução nos teores fenólicos, também, pode estar relacionada à acetificação pelas bactérias acéticas. Su e Silva (2006) citam uma drástica diminuição em antocianinas, polifenóis totais e na atividade antioxidante durante a acetificação de vinhos de mirtilo por 96 horas.

A tendência de menor oxidação dos compostos fenólicos em paneiro aberto pode ser devido ao fato das leveduras configurarem-se como competidoras em potencial pelo oxigênio, ou seja, a oxidação dos compostos fenólicos torna-se menor, uma vez que as leveduras consomem grande parte do oxigênio presente durante a fermentação alcoólica (SALMON, 2006), fermentação predominante neste estudo.

Singleton (1987) relata que em pH de fermentação natural, a reação entre oxigênio singlete ou espécies reativas de oxigênio com compostos fenólicos é muito lenta e que, portanto, o oxigênio presente é rapidamente consumido pelas leveduras.

Alguns autores estudaram a degradação de compostos fenólicos por bactérias lácticas. Ciafardini et al. (1994) estudaram a hidrólise pela β -glucosidase produzida por cepas de *Lactobacillus plantarum*, muito encontrada em frutas. Recentemente, Rodríguez et al. (2008) demonstraram que os ácidos *p*-cumárico, caféico, ferrúlico e *m*-cumárico são metabolizados por *L. plantarum*. Além disso, há conversão em fenólicos simples por esta espécie de bactéria láctica. Ayed e Hamdi (2003) encontraram que em usinas de águas residuais houve importante hidrólise e despolimerização de fenólicos.

Estes dados obtidos configuram-se como importantes indicadores sobre a melhor forma de transporte dos frutos, a qual seria em locais com maior aeração, pois evita o processo fermentativo que oxida um percentual maior dos compostos fenólicos presentes no açaí, perdendo, assim, valor funcional e, conseqüentemente, comercial.

4.7 IMPLICAÇÕES SOBRE UMA POSSÍVEL ATRAÇÃO DE TRIATOMÍNEOS

4.7.1 Calor Específico dos Frutos e Entalpia da Fermentação

Os dados obtidos desses parâmetros revelaram uma grande quantidade de energia despreendida pelos frutos do açaizeiro durante a fermentação espontânea, ou seja, durante seu transporte nos porões dos barcos pela Região Amazônica (13,54 kJ/kg de fruto). Os frutos sendo transportados em condições de maior aeração dissipam uma quantidade relevante de energia, na forma de calor, de 9,76 kJ/kg de fruto.

Como citaram Lazari e Nuñez (1989), os triatomíneos são extremamente sensíveis ao calor, reagindo mesmo com detecções mínimas de energia. Considerando que a carga transportada de frutos do açaizeiro, por embarcação e por dia, seja de 1 tonelada (é maior durante a safra), os números elevam-se bastante, e isso nos leva a credenciar a ocorrência de uma possível atração dos triatomíneos.

A etapa em que os frutos ficam expostos e empilhados nos trapiches das casas ribeirinhas, também se torna uma etapa crítica neste contexto, uma vez que é o ponto da cadeia de comercialização, onde há a maior proximidade com o ecótopo natural do inseto transmissor da DC e inicia-se certos processos metabólicos dos frutos, onde há dissipação desta energia.

4.7.2 Taxa Respiratória

A taxa respiratória demanda o consumo das reservas nutritivas de qualquer fruto, principalmente açúcares, proteínas e lipídeos, para a produção da energia vital, uma vez que não depende mais da fotossíntese. Neste trabalho foi verificado que os frutos de *E. oleracea* possuem uma atividade respiratória relevante dentre frutos não-climatéricos, atingindo nas 3 primeiras horas de acondicionamento em sistema fechado uma taxa máxima de 27,02 mL CO₂/kg de fruto.h.

Neste sentido, Barrozo e Lazzari (2004b) e Guerenstein e Hildebrand (2008) relatam que uma das principais consequências da adaptação dos triatomíneos ao habitat humano, bem como ao seu peridomicílio, é o forte efeito atrativo do gás carbônico sobre insetos hematófagos. Este fato se agrava em ambientes com contínuas correntes de ar, pois os odores

viam em seus pacotes e são detectados como estímulos pelos insetos, mesmo a longas distâncias (GUERENSTEIN e LAZZARI, 2008).

Considerando todos estes fatores, conclui-se que os frutos do açazeiro, em seu período pós-colheita, possuem uma tendência forte de exercer atração aos triatomíneos, que podem estar nas proximidades das casas ribeirinhas ou barcos durante o transporte. Os açazeiros são abundantes em solos de várzea, ou seja, localizados às margens dos rios, onde sempre há correntes de ar em direção ao continente, carreando os odores.

Possivelmente há, também, influência de outro fator quando os frutos estão no trapiche, como a presença de pessoas e animais ao redor dos paneiros contendo os frutos. Animais e humanos aumentam a quantidade de calor e CO₂ transportados pelas correntes de ar. Comparando a respiração destes frutos com a de humanos, 1 tonelada de frutos de açazeiro (aproximadamente 80 paneiros) corresponderia a quantidade de CO₂ exalado por uma pessoa (em média 45 gCO₂/h).

Um dado importante é fornecido por Barrozo e Lazzari (2004a), que dizem que os triatomíneos respondem ao CO₂ apenas no início da escotofase, quando saem à procura de alimento, e isso reflete sobre a colheita do açaí no final da tarde e/ou sobre seu armazenamento na ponta do trapiche à espera da embarcação.

4.7.3 Produtos da Fermentação Espontânea

Mamíferos, em geral, são ótimas fontes de compostos orgânicos voláteis através da transpiração. Estes compostos apresentam efeito atrativo aos triatomíneos, como consta no Quadro 2 (p. 44). A partir destas informações, procurou-se encontrar compostos químicos nos frutos do açazeiro que justificassem uma possível atração dos insetos vetores da DC.

A partir dos resultados obtidos por CG neste trabalho, verificou-se que há ocorrência de fermentação alcoólica, láctica e acética nos frutos durante seu período pós-colheita em simulações das duas condições de transporte dos frutos realizadas na Região Amazônica: porões dos barcos (frutos acondicionados em caixas de isopor fechadas) e fora dos porões (frutos acondicionados em paneiro aberto), sendo que as fermentações foram mais pronunciadas em ambiente microaeróbico.

Etanol e ácido acético não constam na literatura científica dos triatomíneos em apresentar algum efeito atrativo. Entretanto, a combinação de ácido láctico com CO₂ foi testada em ninfas de *R. prolixus* e apresentaram um aumento da atração desses insetos (ver Quadro 2), sendo que os insetos mais encontrados na Amazônia Brasileira pertencem a este gênero, *Rhodnius*.

Barrozo e Lazzari (2004b) relataram que o limite de detecção do CO₂ pela espécie *T. infestans* foi de 300-400 ppm acima do teor de CO₂ do ambiente. Devido ao sinergismo com o ácido láctico, este limite diminuiu para 75-150 ppm. Testes para o ácido láctico apenas, estes mesmos autores verificaram que não há efeito atrativo. Estes dados ainda não são apresentados para o gênero *Rhodnius*.

Considerando que mais de 1 tonelada de frutos são comercializados por dia, os frutos de *E. oleracea* estão, mais uma vez, apresentando propriedades factíveis para uma possível atração dos insetos vetores da DC, pois chegaram a apresentar uma produção de 48 ppm de CO₂/h e 87 ppm de ácido láctico, em condições fermentativas, e 21 ppm de ácido láctico em condições de aerobiose.

4.7.4 Compostos Fenólicos Majoritários

Os compostos fenólicos estão relacionados com atração de insetos, pois apresentam a propriedade de reflexão de radiações UV, a qual está ligada à defesa das plantas, na proteção aos radicais livres. Neste estudo foram obtidos resultados em que se inferem uma maior perda destes compostos quando os frutos são transportados ou armazenados em ambientes de baixa aeração. Portanto, nestas condições há uma menor reflexão de UV para o ambiente, com o decorrer do tempo pós-colheita dos frutos do açaizeiro.

A menor degradação dos compostos fenólicos em ambiente aberto, ocorre-nos, novamente, ao momento em que os paneiros com frutos são empilhados nos trapiches das casas ribeirinhas sob a luminosidade solar, pois ocorrerá maior reflexão dos raios UV ao ambiente, e como mostra a Figura 16 (p. 39), a área de concentração das antocianinas torna-se consideravelmente maior aos insetos possuidores de detecção destes raios, como são os triatomíneos. Portanto, uma vez que há insetos nas proximidades do trapiche, há de considerar, também, este fator como relevante na atração dos vetores da DC.

5 CONCLUSÃO

Neste trabalho objetivou-se avaliar o processo de fermentação espontânea, no período pós-colheita, dos frutos do açazeiro e relacioná-lo com a literatura sobre efeitos atrativos de triatomíneos, para tentar começar a elucidar a transmissão oral da DC pelo consumo de açáí.

Com os resultados obtidos ficou evidenciado que os frutos, durante o período pós-colheita, dissipam uma quantidade relevante de energia na forma de calor, apresentam uma alta taxa respiratória, com pico após 3 horas e perdem maior percentual de massa quando transportados em ambientes com maior aeração, sendo desprezível em ambientes com pouca ventilação. Neste período, os frutos do açazeiro sofrem três tipos de fermentações espontâneas: a alcoólica, a láctica e a acética, sendo mais evidentes em condição microaerófila, e que, nessa condição, há uma maior taxa de degradação dos compostos fenólicos majoritários do açáí, devido à maior atividade microbiana. Durante estas fermentações, foi determinado que o grupo de bactérias lácticas é o predominante, e que a D-glicose e a D-frutose, possivelmente, são os primeiros substratos a serem consumidos pelos microrganismos.

Portanto, fica evidente a necessidade de investimento financeiro em cursos de instrução e capacitação, por parte da esfera governamental, aos produtores, atravessadores e comerciantes de açáí, no sentido da aplicação das boas práticas de fabricação na cadeia produtiva deste fruto. Processos como a refrigeração, higienização e branqueamento dos frutos são de fundamental importância, pois cessaria o desenvolvimento microbiano e, por conseguinte, processos fermentativos, e, ainda, diminuiria a taxa respiratória, conservando a qualidade nutricional e funcional dos frutos.

Aos produtores torna-se muito importante instruí-los, no sentido de evitar colocar os cachos no chão e a presença de animais e pessoas ao redor dos paneiros, e cobrir os frutos, quando os mesmos encontrarem-se nos trapiches para evitar a dissipação de raios UV refletidos pelos frutos; e diminuir ao máximo o tempo de transporte dos frutos até os centros comerciais.

Para futuros trabalhos sobre a fermentação espontânea dos frutos de *E. oleracea* fica a idéia de realizar um estudo mais aprofundado para identificar as espécies fúngicas e bacterianas fermentativas e suas relações com a degradação dos compostos fenólicos do açáí,

no intuito de diminuir esta correlação negativa. Com relação ao estudo de atração dos triatomíneos é necessário realizar testes de atração entre frutos de açazeiro e estes insetos, trabalhando com as concentrações encontradas de ácido láctico e CO_2 neste trabalho para validar as possíveis implicações aqui apresentadas, e testar o ácido acético como fator de atração.

REFERÊNCIAS

- ANGELIS, D. F. **Bactérias Lácticas**. Disponível em <
<http://www.cca.ufscar.br/~vico/Bacterias%20laticas%20na%20fermentacao%20etanolica.pdf>
 >. Acesso em: 24 jun. de 2010.
- ARAÚJO, J. L.; QUEIROZ, A. J. M.; FIGUEIREDO, R. M. F. Propriedades termofísicas da polpa do cupuaçú com diferentes teores de sólidos. **Ciênc. Agrotec.**, v. 28, n. 1, p. 126-134, 2004.
- ARDHANA, M.; FLEET, G. The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 86, p. 87-99, 2003.
- ARGOLO, A. M.; FELIX, M.; PACHECO, R.; COSTA, J. **Doença de Chagas e seus principais vetores no Brasil**. Rio de Janeiro: Imperial Novo Milênio, 2008. 67 p.
- AUDENAERT, K.; D'HAENE, K.; MESSENS, K.; RUYSSSEN, T.; VANDAMME, P.; HUYS, G. Diversity of lactic acid bacteria from modified atmosphere packaged sliced cooked meat products at sell-by date assessed by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. **Food Microbiol.**, v. 27, p. 12-18, 2010.
- AYED, L.; HAMDY, M. Fermentative decolorization of olive mill wastewater by *Lactobacillus plantarum*. **Process Biochem.**, v. 39, p. 59–65, 2003.
- BAMFORTH, Charles W. **Food, Fermentation and Micro-organisms**. Oxford: Blackwell, 2005. 216p.
- BARGHINI, Alessandro. **Influência da Iluminação Artificial sobre a Vida Silvestre: técnicas para minimizar os impactos, com especial enfoque sobre os insetos**. 2008. 229 f. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 2008.
- BARROZO, R. B.; LAZZARI, C. R. Orientation Behaviour of the Blood-sucking Bug *Triatoma infestans* to Short-chain Fatty Acids: Synergistic Effect of L-Lactic Acid and Carbon Dioxide. **Chem. Senses**, v. 29, p. 833-841, 2004a.
- BARROZO, R. B.; LAZZARI, C. R. The response of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to carbon dioxide and other host odours. **Chem. Senses**, v. 29, p. 319–329, 2004b.
- BARROZO, R. B.; MANRIQUE, G.; LAZZARI, C. R. The role of water vapour in the orientation behaviour of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae). **J. Insect Physiol.**, v. 49, p. 315-321, 2003.
- BARROZO, R. B.; MINOLI, S. A.; LAZZARI, C. R. Circadian rhythm of behavioural responsiveness to carbon dioxide in the blood-sucking bug *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae). **J. Insect Physiol.**, v. 50, p. 249–254, 2004.
- BENCHIMOL-BARBOSA, Paulo R. Further comments on oral transmission of Chagas' disease in Brazil: Epidemiology, geographical distribution and viability of the infective parasite. **Int. J. Cardiol.**, Carta ao Editor, 2009.

BEZERRA, V. S. **Cuidados na fabricação de açaí congelado**. Prosa Rural – EMBRAPA, jun. 2009. Disponível em <<http://hotsites.sct.embrapa.br/prosarural/programacao/2009/cuidados-na-fabricacao-de-acai-congelado>>. Acesso em 23 ago. 2009.

BHANDE, S. D.; RAVINDRA, M. R.; GOSWAMI, T. K. Respiration rate of banana fruit under aerobic conditions at different storage temperatures. **J. Food Eng.**, v. 87, p. 116-123, 2008.

BIER, J. W.; SPLITTSOESSER, D. F.; TORTORELLO, M. L. Microscopic Methods. In.: DOWNES, F. P.; ITO, K. (Ed.). **Compedium od Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4ª ed. Washington: American Public Health Association, Cap. 4. 2001. p. 37-44.

BORTOLINI, F.; SANT'ANA, E. S.; TORRES, R. C. Comportamento das fermentações alcóolica e acética de sucos de kiwi (*Actinidia deliciosa*); Composição dos mostos e métodos de fermentação acética. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 21, n. 2, p. 236-243, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Informativo do Departamento de Ciência e Tecnologia - DECIT**, n. 2, abril de 2009. Edição especial.

BRASIL. Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Cria o Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]** Brasília, n. 7, p. 45, 10 jan. 2001. Secão 1.

BROWN, A. W. A. Studies of the responses of the female *Aedes* mosquito. Part IV. Field experiments on Canadian species. **Bull. Entomological Res.**, v. 42, p. 575–583, 1951.

BRUNETTO, M. Del R.; CAYAMA, Y. D.; GUTIÉRREZ, L.; ROA, S. C.; MÉNDREZ, Y. C.; GALLIGNANI, M.; ZAMBRANO, A.; GÓMEZ, A.; RAMOS, G. Headspace gas chromatography–mass spectrometry determination of alkylpyrazines in cocoa liquor samples. **Food Chem.**, v. 112, p. 253-257, 2009.

BUXANT, R., ROGEZ, H., AQUINO, A. R., SOUZA, J. N. DE, SOUSA, C. L. **Qualidade microbiológica do suco de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) comercializado na cidade de Belém - Pará**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 19. Rio de Janeiro: SBM, 1997. 276 p.

CARVALHO, A. V. **Otimização dos Parâmetros Tecnológicos para a Produção de Estruturados de Frutas Funcionais a partir de Polpa de Açaí e “Mix” de Taperebá com Mamão**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2007. 52p. Disponível em <www.cpatu.embrapa.br>. Acesso em 15 set. 2009.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas Comestíveis da Amazônia**. Belém: CEJUB, 5ª Ed., Museu Paraense Emílio Goeldi, 1991. 279 p.

CHANDRARAJ, K.; GUNASEKARAN, P. Alcoholic Fermentation. In.: PANDEY, A. (Ed.) **Concise Encyclopedia of Bioresource Techonology**. Nova Iorque: Food Products Press, 2004. 735p.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças: Fisiologia e Manuseio**. Lavras: UFLA, 2005. 781p.

CIAFARDINI, G.; MARSILIO, V.; LANZA, B.; POZZI, N. Hydrolysis of oleuropein by *Lactobacillus plantarum* strains associated with olive fermentation. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 60, n. 11, p. 4142–4147, 1994.

DE VERO, L.; GALA, E.; GULLO, M.; SOLIERI, L.; GIUDICCI, P. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) analysis to evaluate acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar. **Food Microbiol.**, v. 23, p. 809-813, 2006.

DIAS, João Carlos Pinto. Notas sobre o *Trypanosoma cruzi* e suas características bioecológicas, como agente de enfermidades transmitidas por alimentos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 4, p. 370-375, 2006.

DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4ª edição. Washington: American Public Health Association, D.C., 2001.

FELLOWS, P. J. **Food Processing Technology**. Cambridge: Woodhead, 2000. 575p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 1996. 181p.

FUNG, D. Y. C.; PETRISHKO, D. T. Capillary tube catalase test. **Appl. Microbiol.**, v. 26, p. 631-632, 1973.

GALVÃO C.; CARCAVALLO, R.; ROCHA, D. S.; JURBERG, J. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. **Zootaxa**, v. 202, p. 1-36, 2003. (Resumo)

GAVA, A. J. **Princípios de Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Nobel, 1984. 284p.

GOLDONI, J. S.; GOLDONI, C. L. Fermentação Láctica de Hortaliças e Azeitonas. In.: AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A (Coord.). **Biotechnologia Industrial: Biotechnologia na Produção de Alimentos**. São Paulo: Blücher, 2008. 523p.

GOMEZ-NUÑEZ, J. C. Mass Rearing. **Bull. World Health Org.**, v. 31, p. 565-567, 1964.

GUARNERI, A. A.; LAZZARI, C.; DIOTAUITI, L.; LORENZO, M. G. The effect of relative humidity on the behavior and development of *Triatoma brasiliensis*. **Physiol. Entomol.**, v. 27, p. 142-147, 2002.

GUERENSTEIN, P. G.; GUERIN, P. M. Olfactory and behavioural responses of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to odours of vertebrate hosts. **J. Exp. Biol.**, v. 204, p. 585–597, 2001.

GUERENSTEIN, P. G.; HILDEBRAND, J. G. Roles and Effects of Environmental Carbon Dioxide in Insect Life. **Annu. Rev. Entom.**, v. 53, p. 161-178, 2008.

GUERENSTEIN, P. G.; LAZZARI, C. R. Host-seeking: How triatomines acquire and make use of information to find blood. **Acta Tropica**, artigo *in press*, 2008.

GUERENSTEIN, P. G.; LORENZO, M. G.; NÚÑEZ, J. A.; LAZZARI, C. R. Baker's yeast, an attractant for baiting traps for Chagas' disease vectors. **Experientia**, v. 51, p. 834–837, 1995.

GULLO, M.; CAGGIA, C.; DEVERO, L.; GIUDICCI, P. Characterization of acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 106, p. 209-212, 2006.

GULLO, M.; GIUDICI, P. Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: Phenotypic traits relevant for starter cultures selection. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 125, p. 46-53, 2008.

HASHIZUME, T. Tecnologia do Vinho. In.: AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A (Coord.). **Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na Produção de Alimentos**. São Paulo: Blücher, 2008. 523p.

HELANDER, I. M.; WRIGHT, A. V.; MATTILA-SANDHLON, T. M. Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against gram-negative. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 8, n. 5, p. 146-150, 1997.

HOMMEL, R. K.; AHNERT, P. Acetobacter. In.: ROBINSON, R. K.; BATT, C. A.; PATEL, P. D. **Encyclopedia of Food Microbiology**. Londres: Academic Press, 2000. 2372p.

HUTKINS, R. W. **Microbiology and Technology of Fermented Foods**. Oxford: Blackell, 2006. 489p.

ICMSF. **Microbial Ecology of Food Commodities**. Londres: Kluwer, 2005. 757p.

IEC. INSTITUTO EVANDRO CHAGAS. **Boletim Informativo sobre Vigilância Epidemiológica da Doença de Chagas na Amazônia Brasileira**. 2007.

INPE. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. Ministério da Ciência e Tecnologia do Brasil. **Radiação Ultravioleta: camada de ozônio e saúde humana**. Disponível em < <http://satelite.cptec.inpe.br/uv/R-UV.html>>. Acesso em: 20 de junho de 2009.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 620 p.

JURBERG, J.; GALVÃO, C.; NOIREAU, F.; CARCAVALLO, R. U.; ROCHA, D. S.; LENT, H. **Uma Incografia dos Triatomíneos**. Rio de Janeiro: Co-edição IRD Editions e Editora Gama Filho, 48 p., 2005.

KANG, J.; LI, Z.; WU, T.; JENSEN, G. S.; SCHAUSS, A. G.; WU, X. Anti-oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from açai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). **Food Chem.**, v. 122, p. 610-617, 2010.

LAZZARI, C. R. Circadian organisation of locomotion activity in the haematophagous bug *Triatoma infestans*. **J. Insect. Physiol.**, v. 38, p. 895-903, 1992.

LAZZARI, C. R., NÚÑEZ, J. A. The response to radiant heat and the estimation of the temperature of distant sources in *Triatoma infestans*. **J. Insect Physiol.**, v. 35, p. 525–529, 1989.

LAZZARI, C. R., REISENMAN, C. E., INSAUSTI, T. C. The role of the ocelli in the phototactic response of *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae). **J. Insect Physiol.**, v. 44, p. 1159–1162, 1998.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 2002. 975 p.

LI, H.; CHEN, Y.; GU, G. The effect of propionic to acetic acid ratio on anaerobic–aerobic (low dissolved oxygen) biological phosphorus and nitrogen removal. **Bioresour. Technol.**, v. 99, p. 4400-4407, 2008.

LORENZO, M. G.; LAZZARI, C. R. Temperature and relative humidity affect the selection of shelters by *Triatoma infestans*, vector of Chagas disease. **Acta Tropica**, v. 72, p. 241-249, 1999.

LORENZO, M. G.; REISENMAN, C. E.; LAZZARI, C. R. *Triatoma infestans* can be captured under natural climatic conditions using yeast-baited traps. **Acta Tropica**, v. 70, p. 277–284, 1998.

LUITGARDS-MOURA, J. F.; PEREIRA-BORGES, J.; COSTA, J.; ZAUZA, P. L.; ROSA-FREITAS, M. G. On the possibility of autochthonous chagas disease in Roraima, Amazon Region, Brazil, 2000-2001. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 47, n. 1, p. 45-54, 2005.

MACHADO, M. M. D. **Degradação Biológica de Polifenóis**. 2005. 96 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade do Porto. Porto (Portugal). 2005.

MASSAGUER, P. R. **Microbiologia dos Processos Fermentativos**. São Paulo: Varela, 2005. 525p.

MINOLI, S. A.; LAZZARI, C. R. Take-off activity and orientation of triatomines (Heteroptera: Reduviidae) in relation to the presence of artificial lights. **Acta Tropica**, v. 97, p. 324-330, 2006.

MONTET, D.; LOISEAU, G.; ZAKHIA, N. Fermented Vegetables. In: PANDEY, Ashok (ed.). **Concise Encyclopedia of Bioresource Technology**. Londres: Food Products Press, 2004, p.211-223.

NASCIMENTO, W. M. O.; SILVA, R. W. R. Comportamento fisiológico de sementes de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) submetidas à desidratação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.27, n. 3, p. 349-351, 2005.

NIELSEN, D. S.; TENIOLA, O. D.; BAN-KOFFI, L.; OWUSU, M.; ANDERSSON, T. S.; HOLZAPFEL, W. H. The microbiology of Ghanaian cocoa fermentations analysed using culture-dependent and culture-independent methods. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 114, p. 168-186, 2007.

NÓBREGA, A. A.; GARCIA, M. H.; TATTO, E.; OBARA, M. T.; COSTA, E.; SOBEL, J.; ARAÚJO, W. N. Oral Transmission of Chagas Disease by Consumption of Açai Palm Fruit, Brazil. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 15, n. 4, p. 653-655, 2009.

NOGUEIRA, M. C. L.; LUBACHEVSKY, G.; RANKIN, S. A. A study of the volatile composition of Minas cheese. **LWT – Soc. Food Sci. Technol.**, v. 38, p. 555-563, 2005.

NOGUEIRA, O. L.; HOMMA, A. K.O. Importância do manejo de recursos extrativos em aumentar o carrying capacity: o caso de açaizeiros (*Euterpe oleracea* Mart.) no estuário amazônico. In: AGUIAR, D. R. D. & PINHO, J. B. (eds.). **Agronegócio brasileiro: desafios e perspectivas**, v.2, p.139-150, 1998.

NÚÑEZ, J. A. Food source orientation and activity in *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera, Reduviidae). **Bull. Entomol. Res.**, v. 72, p. 253–262, 1982.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; DUNCAN, C. E.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatória*. **Food Chem.**, v. 115, p. 1199-1205, 2009.

PARÁ. Secretaria de Saúde Pública. Sistema Único de Saúde. Coordenação de Vigilância à Saúde. Departamento de Controle de Endemias. Gerência Técnica em Doença de Chagas. **Manual de vigilância e controle da doença de Chagas para Agentes Comunitários de Saúde e Agentes em Endemias do Estado do Pará**. Belém, PA, 2009.

PASSOS, L. A. C.; GUARALDO, A. M. A. Pesquisa associa a polpa do açai à transmissão da Doença de Chagas. **Jornal da Unicamp**, n. 461, p. 3, mai. 2010. Entrevista.

PINTO, A. B.; GUEDES, C. M.; MOREIRA, R. F. A.; DE MARIA, C. A. B. Volatile constituents from headspace and aqueous solution of genipap (*Genipa americana*) fruit isolated by solid-phase extraction method. **Flavour Fragr. J.**, v. 21, p. 488-491, 2006.

POMPEU, D. R.; BARATA, V. C. P.; ROGEZ, H. Impacto da refrigeração sobre variáveis de qualidade dos frutos do açaizeiro. **Alimentos e Nutrição**, v. 20, n. 1, p. 141-148, 2009.

PRAJAPATI, J. B.; NAIR, B. M. The History of Fermented Foods. In.: Farnworth, E. R. **Handbook of Fermented Functional Foods**. Nova Iorque: CRC Press, 2008. p. 1-24.

REISENMAN, C. E., LORENZO FIGUEIRAS, A. N., GIURFA, M., LAZZARI, C. R. Interaction of visual and olfactory cues in the aggregation behaviour of the haematophagous bug *Triatoma infestans*. **J. Comp. Physiol. A**, v. 186, p. 961–968, 2000.

REISENMAN, C. E.; LAZZARI, C. R.; GIURFA, M. Circadian control of photonegative sensitivity in the haematophagous bug *Triatoma infestans*. **J. Insect. Physiol. A**, v. 183, p. 533-541, 1998.

REISENMAN, C. E.; LAZZARI, C. Spectral sensitivity of the photonegative reaction of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae). **J. Comp. Physiol. A**, v. 192, p. 39–44, 2006.

RIBEIRO, V. S.; SOBRAL, M. C.; ALMEIDA, M. M.; SILVA, G. F. Propriedades Físicas de Produtos Agrícolas. **Rev. Bras. Produtos Agroindustriais**, v. 4, n. 1, p. 1-6, 2002.

ROCA, M. J.; LAZZARI, C. R. Effects of relative humidity on the haematophagous bug *Triatoma infestans*: Hygro-preference and eclosion success. **J. Insect Physiol.**, v. 40, n. 10, p. 901-907, 1994.

ROCHA, A. P. M.; CARVALHO, L. C. R. M.; SOUSA, M. A. V.; MADEIRA, S. V. F.; SOUSA, P. J. C.; TANO, T.; SCHINI-KERTH, V. B.; RESENDE, A. C.; SOARES DE MOU, R. Endothelium-dependent vasodilator effect of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) extracts in mesenteric vascular bed of the rat. **Vasc. Pharmacol.**, v. 46, p. 97-104, 2007.

ROCHA, D. S.; JURBERG, J.; CARCAVALLO, R. U.; PRESGRAVE, O. A. F.; CUNHA, V.; GALVÃO, C. Influência da temperatura e umidade no desenvolvimento ninfal de *Rhodnius robustus*. **Rev. Saúde Pública**, v. 35, n. 4, p. 400-406, 2001.

RODRIGUEZ, H.; CURIEL, J. A.; LANDETE, J. M.; RIVAS, B.; FELIPE, F. L.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; MANCHEÑO, J. M.; MUÑOZ, R. Food phenolics and lactic acid bacteria. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 132, p. 79-90, 2009.

RODRÍGUEZ, H.; LANDETE, J. M.; RIVAS, B. D. L.; MUÑOZ, R. Metabolism of food phenolic acids by *Lactobacillus plantarum* CECT 748^T. **Food Chem.**, v. 107, p. 1393-1398, 2008.

ROGEZ, H. **Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação**, Ed. Eufpa, Belém-PA, Brasil, 2000.

RØRSLETT, N. B. **Professional Nature Photographer**. Disponível em <http://www.naturfotograf.com/UV_TARA_VUL.html#top>. Acesso em 09 jul 2009.

SABATINI, N.; MUCCIARELLA, M. R.; MARSILIO, V. Volatile compounds in uninoculated and inoculated table olives with *Lactobacillus plantarum* (*Olea europaea* L., cv. Moresca and Kalamata). **LWT – Food Sci. Technol.**, v. 41, p. 2017-2022, 2008.

SALMON, J. Interactions between yeast, oxygen and polyphenols during alcoholic fermentations: Practical implications. **LWT – Food Sci. Technol.**, v. 39, p. 959-965, 2006. (Resumo)

SAMPAIO, S. A.; BORA, P. S.; HOLSCHUC, H. J.; SILVA, S. M. Postharvest respiratory activity and changes in some chemical constituents during maturation of yellow mombin (*Spondias mombin*) fruit. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, v. 27, n. 3, p. 511-515, 2007.

SANTANA, A. C.; COSTA, F. A. in ROGEZ, H. e PENA, R.S. **Olhares Cruzados sobre o Açaí**, Ed. Eufpa, Belém – PA, Brasil. (inédito)

SQUET, A. A.; STREIF, J. Respiração e produção de etileno de maçãs armazenadas em diversas concentrações de oxigênio. **Rev. Brasil. Agrociência**, v. 8, n. 1, p. 71-75, 2002.

SATO, S. Alimentos Orientais. In.: AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A (Coord.). **Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na Produção de Alimentos**. São Paulo: Blücher, 2008. 523p.

SCHAUSS, A. G.; WU, X. PRIOR, R. L.; OU, B.; PATEL, D.; HUANG, D.; KABABICK, J. P. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Acai). **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, n. 22, p. 8598-8603, 2006.

SCHMITZ, H., TRENNER, S., HOFMANN, M. H., BLECKMANN, H. The ability of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera; Reduviidae) to approach a thermal source solely by its infrared radiation. **J. Insect Physiol.**, v. 46, p. 745–751, 2000.

SCHÖNBERGER, C.; KROTTENTHALER, M.; BACK, W. **Sensory and Analytical Characterisation of Non-Volatile Taste Active Compounds in Bottom Fermented Beers**. In: 115th Convention of the Master Brewers Association of the Americas, 2002, Austin, Texas, EUA. Disponível em www.mbaa.com/meeting/2002/posters/p10.pdf. Acesso em: 09 set. 2010.

SHRIVASTAVA, M.; DATTA, A. K. Determination of specific heat and thermal conductivity of mushrooms (*Pleurotus florida*). **J. Food Eng.**, v. 39, p. 255-260, 1999.

SINGLETON, V. L. Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines, and model systems: Observation and practical implications. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 38, p. 69–77, 1987.

SÖDERGÅRD, A.; STOLT, M. Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition. **Progress in Polymer Sci**, v. 27, p. 1123-1163, 2002.

SOLIERI, L.; GIUDICI, P. **Vinegars of the world**. Milão: Springer, 2009. 297p.

SOUSA, C. L.; MELO, G. M. C.; ALMEIDA, S. C. S. Avaliação da Qualidade do Açaí (*Euterpe oleracea*) comercializado na cidade de Macapá – AP. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 17, n. 2, p. 127-136, 1999.

SOUZA, J. N. S. **Etude des propriétés antioxydantes in vivo d'extraits de feuilles de *Byrsonima crassifolia* et *Inga edulis* et caractérisation partielle des composés phénoliques**. 2007. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculte d'ingénierie biologique, agronomique et environnementale, Université Catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgium, 2007.

STEFFENS, A. C.; BRACKMANN, A.; PINTO, J. A. V.; EISERMANN, A. C. Taxas respiratória de frutas de clima temperado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 3, p. 313-321, 2007.

SU, M.; SILVA, J. L. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) by-products as affected by fermentation. **Food. Chem.**, v. 97, p. 447-451, 2006.

TANEJA, J.; GUERIN, P. M. Oriented responses of the triatomine bugs *Rhodnius prolixus* and *Triatoma infestans* to vertebrate odors on a servosphere. **J. Comp. Physiol. A**, v. 176, p. 455–464, 1995.

VALENTE, A. S. Tese sobre Doença de Chagas Enfatiza a Necessidade de Maior Vigilância. **Agência FioCruz de Notícias**. Entrevista. Disponível em <<http://www.fiocruz.br/ccs/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=9>>. Acesso em 14 de Nov. 2008.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for microbiological examination of foods**. 3.ed. Washington, DC : American Public Health Association, 1992.

WEHR, H. M.; FRANK, J. F. **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. 17^a edição. Washington: American Public Health Association, 2004.

WIGGLESWORTH, V. B.; GILLETT, J. D. The function of the antennae in *Rhodnius prolixus*: confirmatory experiments. **J. Exp. Biol.**, v. 11, p. 120-139, 1934. (resumo)

WIZEL, B.; GARG, N.; TARLETON, R. L. Vaccination with Trypomastigote Surface Antigen 1-Encoding Plasmid DNA Confers Protection against Lethal *Trypanosoma cruzi* Infection. **Infec. Immun.**, v. 66, n. 11, p. 5073–5081, 1998.

WU, V. C. H.; FUNG, D. Y. C. The investigation of microbial succession and comparison among PCA, EMB, MRS and Kang-Fung medium in chinese pickle with different salt concentrations. **J. Rapid Methods & Autom. in Microbiol.**, v. 14, p. 337-348, 2006.

ZAK, D. L.; OSTOVAR, K.; KEENEY, P. G. Implication of *Bacillus subtilis* in the synthesis of tetramethylpyrazine during fermentation of cocoa beans. **J. Food Sci.**, v. 37, p. 967–968, 1972. (Notas de Pesquisa)