



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

KARINE MARAFON

Performance, propriedade físico-química, teor de compostos bioativos e caracterização do perfil multielementar da polpa de acerola durante o processo de crioconcentração em blocos

Florianópolis

2023

Karine Marafon

Performance, propriedade físico-química, teor de compostos bioativos e caracterização do perfil multielementar da polpa de acerola durante o processo de crioconcentração em blocos

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.
Orientador: Prof^ª Dr^ª Elane Schwinden Prudêncio
Coorientador: Dr^ª. Isabel Cristina da Silva Haas

Florianópolis

2023

Ficha de identificação da obra

Marafon, Karine

Performance, propriedade físico-química, teor de compostos bioativos e caracterização do perfil multielementar da polpa de acerola durante o processo de crioconcentração em blocos / Karine Marafon ; orientador, Elane Schwinden Prudêncio, coorientador, Isabel Cristina Da Silva Haas, 2023.

60 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, , Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. . 2. Crioconcentração. 3. Acerola. 4. Minerais. I. Prudêncio, Elane Schwinden. II. Haas, Isabel Cristina Da Silva . III. Universidade Federal de Santa Catarina. . IV. Título.

Karine Marafon

**PERFORMANCE, PROPRIEDADE FÍSICO-QUÍMICA, TEOR DE COMPOSTOS
BIOATIVOS E CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL MULTIELEMENTAR DA POLPA
DE ACEROLA DURANTE O PROCESSO DE CRIOCONCENTRAÇÃO EM
BLOCOS**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca
examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.(a) Elane Schwinden Prudêncio, Dr.(a)
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Marcelo Lanza, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Eduard Hernández, Dr.
Universidade Politécnica da Catalunha

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que
foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Engenharia de Alimentos.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof^a Dr^a. Elane Schwinden Prudêncio

Florianópolis, 2023.

“Dedico este trabalho a minha amada família,

João, Fátima, Kellyn e Marina”

AGRADECIMENTOS

A orientadora prof^a. Dr^a. Elane Schwinden Prudêncio, pelo seu apoio, orientação, e dedicação ao meu aprendizado em todas as etapas dessa pesquisa. Sem você isso não seria possível, obrigada por acreditar no meu potencial e por estar presente sempre que necessitei.

A Dr^a Isabel Cristina Da Silva Haas, por toda ajuda nas etapas experimentais e apoio no decorrer dessa pesquisa.

A Universidade Federal de Santa Catarina.

Ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de alimentos (PPGEAL).

Ao grupo de pesquisa Lableite (CTA-UFSC), por permitir usar os equipamentos e auxiliar durante a pesquisa.

Ao Dr. Jerfferson Santos de Gois pela ajuda prestada na análise de minerais.

A empresa Duas Rodas pela disponibilidade da matéria-prima e apoio total no decorrer do mestrado.

As meninas do Labbebidas da Duas Rodas, pelo apoio e palavras amigas durante as etapas da pesquisa. Aos meus amigos Melyna, Mariana e Augusto, por todas as vezes que estenderam a mão, e se fizeram presentes durante esse tempo.

A minha família, por nunca duvidarem de que eu chegaria lá!

Muito obrigada!

“São nossas escolhas, mais do que as nossas capacidades, que mostram quem realmente somos”

Joanne Rowling

RESUMO

A busca por alimentos mais saudáveis vem impulsionando o setor alimentício, a preservação de compostos fenólicos e minerais, faz com que as indústrias de ingredientes e alimentos consigam ofertar produtos mais ricos nutricionalmente, e que agreguem a saúde da população. A crioconcentração da polpa de acerola, permite obter concentrados ricos em compostos bioativos, vitaminas e minerais. Esta dissertação está estruturada em capítulos, sendo o primeiro capítulo referente a revisão bibliográfica, e o segundo capítulo referente aos resultados da pesquisa experimental. O objetivo deste trabalho foi crioconcentrar a polpa de acerola em três estágios, através de um descongelamento em blocos gravitacional, onde os concentrados e frações de gelo de todas as etapas passaram por análises físico-químicas, desempenho e eficiência do processo, potencial polifenólico, atividade antioxidante (DPPH, FRAP e ABTS) e perfil multielementar. A crioconcentração se mostrou eficiente na concentração de polifenóis totais sendo os melhores resultados no segundo e terceiros estágios. Para a atividade antioxidante pelo método ABTS e DPPH pode-se destacar o concentrado do terceiro estágio, e para o método FRAP o concentrado do segundo estágio, apresentando também aumentos na eficiência do processo e no fator de concentração. Quanto as propriedades físicas nos concentrados, houve aumento na densidade, teor de sólidos solúveis totais e acidez titulável, diminuição de vitamina C e umidade comparando com a amostra controle (polpa de acerola). Os concentrados dos três estágios apresentaram diferença de cor perceptível a olho nu, com aumento na intensidade da cor vermelha. Os minerais Cu, Ca, S, Sr, K, Mn, Na, P, Mg e Fe, apresentaram altas concentrações no terceiro estágio. De maneira geral, os concentrados da segunda e terceira etapas de crioconcentração, se mostraram eficientes na concentração dos compostos de interesse, sendo uma boa alternativa para aplicação futura em produtos alimentícios.

Palavras-chave: *Malpighia emarginata* DC. Concentração. Fator de concentração. Eficiência do processo. Produto funcional.

ABSTRACT

The search for healthier foods has been driving the food sector, the preservation of phenolic and mineral compounds, makes the ingredients and food industries able to offer products that are nutritionally richer, and that add to the health of the population. The cryoconcentration of acerola pulp allows to obtain concentrates rich in bioactive compounds, vitamins and minerals. This dissertation is structured in chapters, the first chapter referring to the bibliographic review, and the second chapter referring to the results of the experimental research. The objective of this work was to cryoconcentrate acerola pulp in three stages, through thawing in gravitational blocks, where the concentrates and ice fractions of all stages underwent physicochemical analyses, process performance and efficiency, polyphenolic potential, activity antioxidant (DPPH, FRAP and ABTS) and multielement profile. Cryoconcentration proved efficient in the concentration of total polyphenols, with the best results in the second and third stages. For the antioxidant activity by the ABTS and DPPH method, the concentrate of the third stage can be highlighted, and for the FRAP method, the concentrate of the second stage, also presenting increases in the efficiency of the process and in the concentration factor. As for the physical properties of the concentrates, there was an increase in density, total soluble solids and titratable acidity, a decrease in vitamin C and moisture compared to the control sample (acerola pulp). The concentrates of the three stages showed a noticeable difference in color with the naked eye, with an increase in the intensity of the red color. The minerals Cu, Ca, S, Sr, K, Mn, Na, P, Mg and Fe showed high concentrations in the third stage. In general, the concentrates from the second and third stages of cryoconcentration proved to be efficient in the concentration of the compounds of interest, being a good alternative for future application in food products.

Keywords: *Malpighia emarginata* DC. Concentration. Concentration factor. Process efficiency. Functional product.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1 - Fluxograma das etapas de obtenção da polpa de acerola:20

Figura 2 - Compostos presentes em matrizes vegetais.....21

Capítulo 2

Figure 2.1 - Block cryoconcentration flowchart of acerola pulp:.....37

Figure 3.1 - Experimental and predicted ice mass ratio of acerola pulp block cryoconcentration process:.....43

Figure 3.2 - Total soluble solids (°Brix) of acerola pulp, concentrates fractions and ice fractions in three stages of block cryoconcentration process:.....44

Figure 3.3 - Results of vitamin C (ascorbic acid) (means) content and standard deviation (I) of acerola pulp, concentrates fractions and ice fractions in three stages of block cryoconcentration process:.....47

Figure 3.4 - Total phenolic results (mean) and standard deviation (I) of acerola pulp, concentrates and ice fractions in the three stages of block cryoconcentration process:.....48

Figure 3.5 - Antioxidant activity results (mean) and standard deviation (I) of acerola pulp, concentrates and ice fractions in the three stages of block cryoconcentration process:.....48

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1 - Características da polpa de acerola *in natura*: 17

Tabela 2 - Composição nutricional média da polpa de acerola congelada: 18

Capítulo 2

Table 3.1 - Results (mean \pm standard deviation) for concentration factor (CF) and process efficiency (PE) of three stages of acerola pulp block cryoconcentration process:.....:.....42

Table 3.2 - Physicochemical results (mean \pm standard deviation) for acerola pulp, concentrates fractions and ice fractions in three stages of block cryoconcentration process:.....45

Table 3.3 - Results (mean \pm standard deviation) for multi-elemental profile of concentrates and ice fractions from three stages of acerola pulp block cryoconcentration:.....51

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
CAPÍTULO 1	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
1.1 A ACEROLA.....	16
1.1.1 A polpa de acerola	17
1.2 COMPOSTOS BIOATIVOS.....	Erro! Indicador não definido.
1.3 ÁCIDO ASCÓRBICO	23
1.4 A CRIOCONCENTRAÇÃO	233
1.4.1 Crioconcentração por blocos com degelo gravitacional	24
REFERÊNCIAS	26
CAPÍTULO 2	30
ABSTRACT	32
1 INTRODUCTION	34
2 MATERIAL AND METHODS	35
2.1 MATERIALS	35
2.2 CRYOCONCENTRATION PROCESS IN BLOCK WITH GRAVITACIONAL THAWING OF THE ACEROLA PULP	35
2.3 PERFORMANCE OF THE CRYOCONCENTRATION PROCESS	37
2.3.1 Concentration factor (CF)	37
2.3.2 Process efficiency (PE)	38
2.3.3 Concentrate balance	Erro! Indicador não definido.
2.4 PHYSICOCHEMICAL ANALYSIS	38
2.5 TOTAL PHENOLIC AND ANTIOXIDANT ACTIVITY	39
2.6 MULTI-ELEMENTAL PROFILE	40
2.7 STATISTICAL ANALYSIS	41
3 RESULTS AND DISCUSSION	41
3.1 PERFORMANCE OF THE CRYOCONCENTRATION PROCESS	41
3.2 PHYSICOCHEMICAL ANALYSIS	43

3.3	TOTAL PHENOLIC AND ANTIOXIDANT ACTIVITY	47
3.4	MULTI-ELEMENTAL PROFILE	49
4	CONCLUSION	52
	REFERENCES	53
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	56
	APÊNDICE A.....	57

INTRODUÇÃO

A acerola (*Malpighia Emarginata D.C.*) é uma fruta originária da América central e parte norte da América do Sul, sendo introduzida no Brasil na década de 1950. O Brasil país é um dos maiores produtores e exportadores da acerola com mais de 70.000 mil toneladas/ano da fruta. Sua produção atual, se destaca no nordeste, devido ao clima que é propício para o crescimento dessa fruta. Além disso, a acerola é conhecida como uma planta resistente e com facilidade de se adaptar em diferentes condições climáticas (IBGE, 2017). Entretanto, como a acerola é uma fruta delicada, e de difícil manipulação o seu processamento garante o consumo durante todo ano, até mesmo no período entre safras (FIGUEIREDO NETO *et al.*, 2014; RIVEROS, 2019).

O consumo da acerola vem crescendo devido a sua quantidade de vitamina C e compostos bioativos, sendo estudada e utilizada até mesmo como conservante natural em outros produtos alimentícios. Pelos seus altos teores de polifenóis e vitamina C, acaba se destacando entre as frutas tropicais como fonte de antioxidantes naturais. A quantificação e a caracterização dos compostos bioativos presentes na acerola, são importantes pelo seu valor comercial e nutricional (RITZINGER, 2011; SILVEIRA, 2019). Contudo, por se tratar de um produto rico em compostos que são termicamente sensíveis, os processos habitualmente utilizados para concentração dos alimentos acabam não sendo os mais indicados para a acerola, já que pode ocorrer perdas dos compostos bioativos de interesse. Na indústria de alimentos, a busca por produtos de qualidade impulsiona o desenvolvimento de novos processos e metodologias, que melhorem os produtos diminuindo a perda de compostos bioativos. Nesse sentido, tem-se a crioconcentração, que é uma tecnologia que concentra produtos alimentares líquidos através do seu congelamento e subsequente separação de uma parte da água congelada, não causando danos a compostos termicamente sensíveis, pois as reações de degradação química e bioquímica são bem mais lentas em baixas temperaturas (BÉLEN *et al.*, 2012; SÁNCHEZ *et al.*, 2011).

A crioconcentração, uma tecnologia emergente que visa à concentração de componentes sólidos de um líquido, vem sendo realizada também para diversos produtos junto ao grupo de pesquisa no qual este projeto está inserido, como por exemplo, o soro lácteo de cabra (LIZ, *et al.* 2020) o soro de vaca (BARROS *et al.*, 2022), o extrato de erva-mate (BOAVENTURA *et al.*, 2013), o leite de cabra (CANELLA *et al.*, 2019) e o leite vaca (MUÑOZ *et al.*, 2017), e o suco de laranja (HAAS *et al.*, 2022). Enfim, este trabalho está estruturado na forma de artigo e foi dividido da seguinte forma:

(a) Capítulo 1 – **Revisão Bibliográfica** constitui um embasamento bibliográfico abordando os principais temas envolvidos no trabalho: sobre o fruto acerola, incluindo a polpa de acerola; sobre compostos bioativos; ácido ascórbico; e a crioconcentração.

(b) Capítulo 2 – **An opportunity of acerola pulp (*Malpighia emarginata* DC) valorization by the use of block cryoconcentration process: performance, physicochemical, bioactive compounds and multi-elemental profile characterization**, cujo objetivo foi avaliar o efeito de três etapas da crioconcentração em bloco de polpa de acerola. Ambas as frações obtidas do processo de crioconcentração em cada etapa da crioconcentração (concentrado e gelo), foram avaliadas para determinar a melhor etapa do processo, visando a valorização da polpa de acerola em relação ao seu desempenho, às propriedades físico-químico, os teores de compostos bioativos e o perfil multielementar mineral.

CAPÍTULO 1

Revisão Bibliográfica

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 A ACEROLA

A acerola (*Malpighia Emarginata D.C.*) é uma fruta nativa da América Central e da parte norte da América do Sul. Esta fruta foi introduzida no Brasil inicialmente no Estado de Pernambuco em 1955. A comercialização no Brasil iniciou-se a partir do ano de 1980 (RITZINGER, 2011). O Brasil é mundialmente um dos maiores produtores de acerola, correspondendo a cerca de 64% da produção nacional no ano de 2013 (FIGUEIREDO NETO *et al.*, 2014). Dados recentes mostram que a área colhida de acerola em 2017 foi de 5.753 hectares, onde foram produzidas quase 70 mil toneladas de frutas. Pernambuco é o maior estado produtor do país, ficando responsável por 21.351 toneladas, seguido do Ceará com 7.578 toneladas e Sergipe com 5.427 toneladas (IBGE, 2017). Grande parte da produção brasileira acaba sendo exportada para Estados Unidos, Japão e Europa na forma de concentrados e sucos. O consumo no Brasil desta fruta vem se destacando, pois, apresenta alto teor de vitamina C, sendo este valor até 100 vezes maior que o limão e a laranja, e até 20 vezes maior que a goiaba (CARNEIRO, 2017; RIVEROS, 2019).

A produção da aceroleira por hectare é de 6,5 toneladas por ano, podendo chegar a 50 toneladas, após o quinto ano de cultivo da fruta. Existem diversas variedades de acerola, sendo então classificadas em doces e ácidas. As ácidas acabam sendo mais ricas em vitamina C (1,4 mg a 1,8 mg de ácido ascórbico por 100 mL de fruta), sendo mais utilizadas para industrialização, enquanto as mais doces acabam sendo destinadas ao consumo “*in natura*”. Existem em torno de 25 variedades de acerola sendo produzidas no Brasil, porém apenas 14 estão registradas junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). São características consideradas essenciais para o uso do fruto, o seu peso, entre 4 g e 5 g; e a coloração vermelha (SANTOS, 2016).

A acerola tem uma grande importância econômica pela sua elevada composição nutricional, e aos altos teores de compostos bioativos presentes na fruta. Entre as substâncias de importância, podemos destacar os carotenoides, compostos fenólicos como a quercetina glicosilada e kaempferol, e os ácidos fenólicos como cumárico, ferúlico, siríngico, cafeíco e gálico, e o ácido ascórbico (DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013; RIVEROS, 2019).

A acerola é uma fruta pequena e carnosa, que apresenta diversas tonalidades, desde o verde quando está em desenvolvimento, passando pelo amarelo e chegando ao vermelho

quando está madura. A passagem entre os estágios de maturação da fruta é rápida, levando em média 22 dias para se ter uma polpa madura e rica em vitamina C (RIVEROS, 2019). A aceroleira, pode produzir de 4 a 6 floradas por ano. As floradas estão ligadas ao modo de cultivo exercido, sendo que dependem de condições climáticas em combinação com irrigação, para que a floração e frutificação seja praticamente contínua (OLIVEIRA, 2009). Entretanto, como o processo de maturação da acerola é rápido, tem-se dificuldade no manuseio e no armazenamento após a colheita, sendo assim, o processamento do fruto se torna fundamental para garantir o consumo durante todo o ano, a fim de evitar desperdícios (AGUIAR *et al*, 2010; ROCHA, 2019).

1.1.1 A polpa de acerola

Segundo Brasil (2000) a polpa de acerola é definida como um produto não fermentado e não diluído, derivado da parte comestível da acerola, através de um processo adequado e com teor mínimo de sólidos solúveis. A polpa deve ser obtida de frutas maduras e frescas, com sua cor variando entre laranja e vermelho escuro, sabor ácido e aromas característicos. A polpa deve ter a composição de acordo com a IN nº 7, de janeiro de 2000 (Tabela 1) (BRASIL, 2000).

Tabela 1 - Características da polpa de acerola *in natura*

Composição	Mínimo	Máximo
Sólidos solúveis a 20° C (°Brix)	5,50	-
Acidez total expressa em ácido cítrico (g/100g)	0,80	-
Ácido ascórbico (mg/100g)	800,00	-
Açúcares totais naturais (g/100g)	4,00	9,50
Sólidos totais (g/100g)	6,50	-
pH	2,80	-

Fonte: Brasil (2000).

Os compostos presentes na acerola, variam conforme a variedade e o grau de maturação da mesma. Na Tabela 2 é demonstrada a composição nutricional da polpa de acerola congelada (NEPA, 2011). Contudo, a preservação dos nutrientes da polpa de acerola está relacionada ao processo de fabricação (MERCALI, 2014).

Tabela 2 - Composição nutricional média da polpa de acerola congelada.

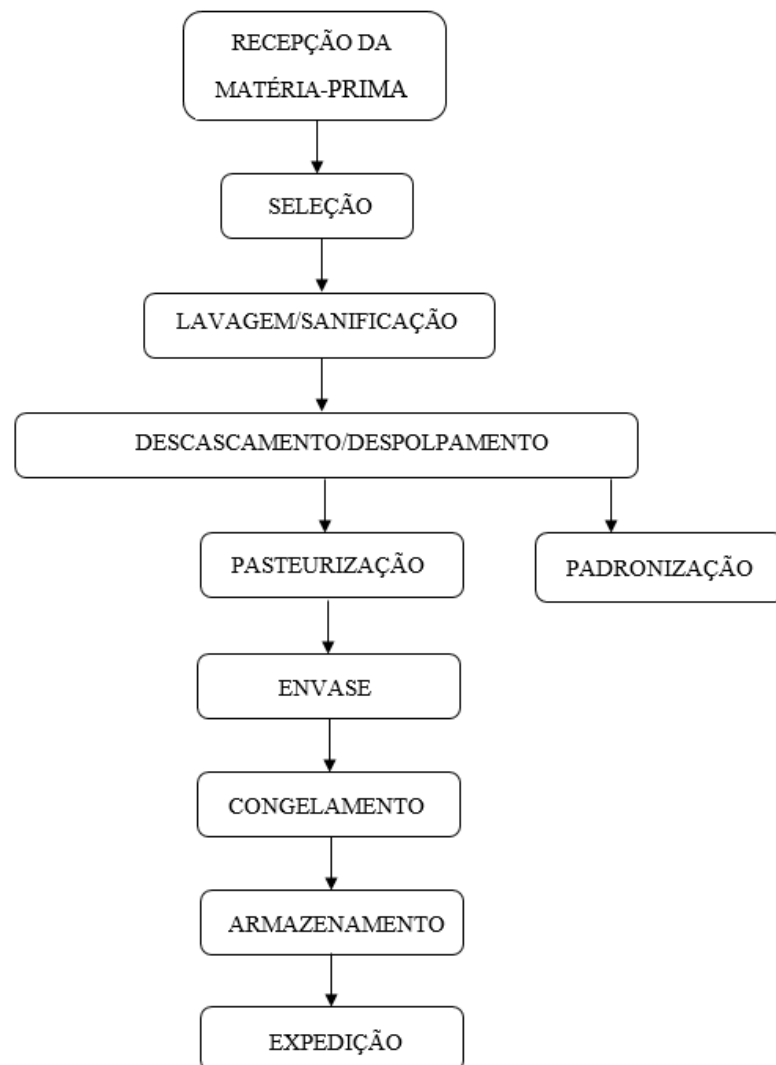
Composição	Destaques	Valor médio por 100 g de polpa
Calorias (kcal)		22,00
Proteínas (g)		0,60
Lipídeos (g)		< 0,01
Carboidratos (g)		5,50
Fibra alimentar (g)		0,70
Sais minerais (g)		0,30
	Cálcio (mg)	8,00
	Ferro (mg)	0,20
	Magnésio (mg)	9,00
	Fósforo (mg)	13,00
	Potássio (mg)	112,00
	Sódio (mg)	1,00
	Zinco (mg)	0,10
	Cobre (mg)	0,04
	Manganês (mg)	0,03
Vitamina C (mg)		623,20
Riboflavina (mg)		0,10
Vitamina A (mg)		231,00
Ácidos graxos totais saturados (g)		0,07
Ácidos graxos totais monoinsaturados (g)		0,08
Ácidos graxos totais poli-insaturados (g)		0,09
Colesterol (mg)		< 0,01

Fonte: NEPA (2011).

Para a obtenção da polpa, a fruta passa por vários processamentos, que são descritos na Figura 1. De modo geral, a matéria-prima (acerola), recebida em caminhões, onde são removidas as frutas que possuem coloração verde ou que estão danificadas. Na etapa de lavagem, as frutas passam por esteiras até o lavador mecânico, onde é feito um banho por imersão, retirando assim as impurezas mais grosseiras. A sanitização é feita pelo uso de uma solução clorada com concentração próxima a 150 ppm, sendo realizado vários enxagues para

retirada de qualquer residual do cloro. Na etapa de despulpamento, é utilizado uma despulpadeira mecânica, onde a mesma promove a trituração e desintegração do fruto. Esse equipamento permite a separação da casca da parte de interesse da fruta, onde a polpa segue para a próxima etapa e as cascas são retiradas e direcionadas para outra utilização. A polpa passa por análises para controle de qualidade, como °Brix, vitamina C, acidez titulável e pH. Na sequência a polpa é pasteurizada (binômio tempo/temperatura de 15 segundos a temperatura de 75 °C) em trocador de calor de placas. Finalizado o processo de pasteurização, a polpa segue para envase, onde pode-se utilizar uma dosadora automática. Já em suas respectivas embalagens, as polpas seguem para o congelamento rápido, onde as temperaturas ficam próximas de - 30 °C. A polpa congelada segue para o armazenamento, o mesmo é feito em câmaras de armazenamento a uma temperatura próxima a - 21 °C. O produto fica armazenado até sair para expedição em caminhões refrigerados e com temperatura monitorada, para que não ocorra variações no produto até chegar ao destino (FIDÉLIS, 2018).

Figura 1 – Fluxograma das etapas de obtenção da polpa de acerola



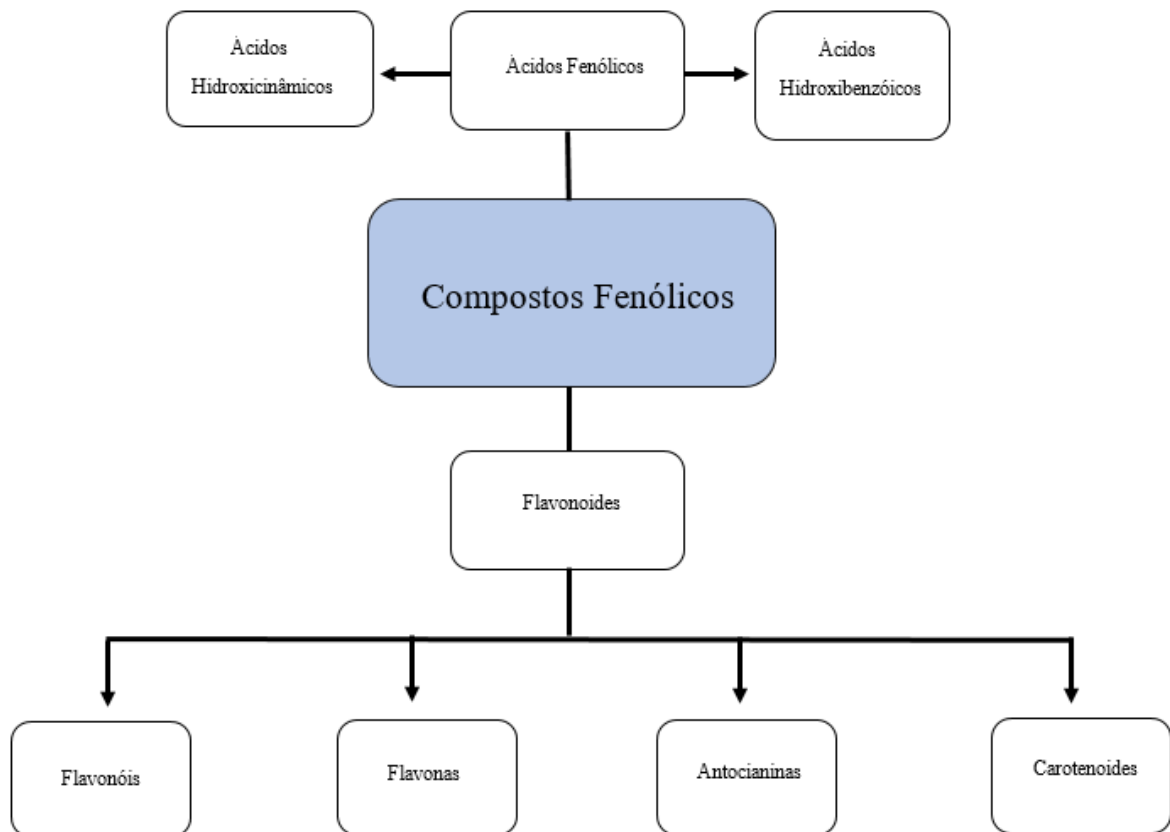
Fonte: Baseado em Fidélis (2018), com modificações.

1.2 COMPOSTOS BIOATIVOS

Os compostos bioativos são metabólitos secundários formados em condições de estresse da planta. Esses compostos são responsáveis por muitas características nos alimentos, como cor, sabor e odor. Dentro desse grupo estão presentes as vitaminas e os fenólicos totais. O teor de bioativos presentes, varia conforme a cultura, variedade, condições ambientais, maturidade das plantas e formas de armazenamento (OLIVEIRA, 2020).

Os compostos fenólicos apresentam um grupo hidroxila funcional e anel aromático, são um grupo quimicamente heterogêneo, sendo separados em classes em função da sua estrutura química (número e posição de seus átomos de carbono), sendo comumente encontrados ligados a açúcares e ácidos orgânicos. Esses compostos são divididos em duas classes (Figura 2) os flavonoides (flavonóis, flavonas, isoflavonas, antocianinas e carotenoides) e os não-flavonoides (ácidos hidroxibenzóico e hidroxicinâmico) (MANACH *et al.*, 2004).

Figura 1 - Compostos presentes em matrizes vegetais.



Fonte: Autora (2023).

Segundo Delva e Goodrich-Scheneideer (2013), os principais flavonoides encontrados em cultivares de acerola são a catequina, isoquercitrina, isoramnetina, kaempferol, luteolina, naringenina, pinobanksin e quercetina, e alguns ácidos fenólicos como o ácido gálico, cafeíco,

p-cumárico, 3,4- dihidroxibenzoico, ferúlico, salicílico e sinápico, em concentrações variadas conforme o estágio de maturação da fruta.

Os compostos flavonoides são responsáveis pela coloração de flores e frutos, possuem baixa massa molecular, e são compostos por 15 carbonos. Sua estrutura contém dois anéis aromáticos unidos por três carbonos. Os flavonoides podem ser classificados em flavonas, isoflavonas e antocianidinas, e os não-flavonoides classificados em taninos e ácidos fenólicos. Os flavonoides possuem alta capacidade de atuar como antioxidantes eliminando os radicais livres, conseguem agir como agentes quelantes de íons metálicos, conseguindo prevenir doenças inflamatórias, cardiovasculares e auxiliando na prevenção do envelhecimento. Os compostos flavonóis são derivados da biossíntese dos flavonoides, sendo caracterizados pela presença de uma instauração no anel heterocíclico e um grupo hidroxila na terceira posição (HAAS, 2015).

Os ácidos fenólicos são uma das principais classes de compostos fenólicos do reino vegetal, e podem ocorrer nas formas de ésteres, glicosídeos e amidas, raramente se encontram em suas formas livres. As variações que ocorrem nos ácidos fenólicos, estão relacionadas a localização dos grupos hidroxilas do anel aromático. Esses compostos, geralmente tem dois tipos de estruturas principais, o ácido hidroxicinâmico e o hidroxibenzoico. Dentro dessas duas principais estruturas, temos os seus derivados que são o os ácidos ferúlico, cafeico, p-cumárico e sináptico (derivados do hidroxicinâmico), e os ácidos gálico, vanílico, siríngico e protocatecuico (derivados do hidroxibenzóico) (BARROS, 2019; ROUTRAY, 2011).

Na acerola, a cor vermelha se dá pela presença das antocianinas que estão concentradas no epicarpo do fruto, sendo as mais presentes a cianidina e pelargonidina. Alguns pigmentos encontrados na casca de acerola são a malvidina 3-5-diglicosilada, cianidina 3-glicosilada e pelargonidina (VENDRAMINI; TRUGO, 2000). As antocianinas são conhecidas como pigmentos, que são solúveis em água, e estão presentes nas cascas e polpas de algumas frutas, tem baixo peso molecular e são hidrossolúveis. A intensidade de cor, depende de muitos fatores, como o tipo de antocianina presente, pH, concentração e grau de maturação do fruto. As antocianinas possuem tonalidades que vão do vermelho ao roxo, sendo responsáveis pela coloração de muitas frutas (FERREIRA, 2020; HAAS, 2015).

1.3 ÁCIDO ASCÓRBICO

O ácido ascórbico ou vitamina C, também conhecida como ácido L-ascórbico ($C_6H_8O_6$), é uma molécula orgânica contendo 6 carbonos, do tipo ceto-lactona sendo geralmente relacionada aos monossacarídeos de hexoses (NOGUEIRA, 2011). O teor de vitamina C na acerola varia da sua composição genética, época de colheita, método de cultura da planta, estágio de maturação, clima entre outros. A vitamina é um composto hidrossolúvel, ou seja, solúvel em água e pouco solúvel em solventes orgânicos. Presente principalmente em frutas cítricas e vegetais, possui ação antioxidante, pode sintetizar lipídeos e proteínas, além de metabolizar carboidratos (SOARES, 2019).

A vitamina C está presente nas células do organismo humano onde exerce funções no metabolismo, está envolvido no ciclo celular em mecanismos de crescimento e divisão celular, possui forte poder antioxidante, neutralizando as espécies reativas de oxigênio (ROCHA, 2019). Nas plantas pode estar presente tanto na forma reduzida, como ácido ascórbico, ou na forma oxidada como desidroascorbato, apresentando atividade biológica em ambas as formas (OLIVEIRA, 2012).

Em produtos que passam por processamentos, a quantidade de ácido ascórbico depende de fatores como tempo e temperatura, concentração de oxigênio, teor de açúcar, pH, concentração inicial de vitamina C, presença de enzimas e metais. Durante esses processamentos, deve-se evitar a incorporação de ar e a exposição a luz, alguns estudos trazem que altos teores de sólidos solúveis ajudam na proteção do ácido ascórbico, pois diminuem a velocidade de migração do oxigênio para o produto, diminuindo os processos oxidativos, como por exemplo, os processamentos que empregam baixas temperaturas (MERCALI, 2014).

1.4 A CRIOCONCENTRAÇÃO

A crioconcentração consiste em uma operação unitária, utilizada para concentrar líquidos através do congelamento, onde ocorre a separação da fração congelada, rica em água, da líquida contendo geralmente maior teor de sólidos. Quando se reduz a temperatura do processo de crioconcentração, automaticamente começa a cristalização da água, e a partir daí, pode-se fazer a separação dos cristais de gelo, dando origem a um concentrado de fase líquida (BÉLEN *et al.*, 2012; SÁNCHEZ *et al.*, 2011).

Pode-se separar o processo de crioc Concentração em etapas, a de congelamento da solução/produto e a de separação do concentrado da fase sólida. Na etapa de congelamento, ocorre um processo de transferência de calor e massa, devido a diferença de temperaturas apresentada entre o produto e o método de resfriamento, ocorrendo a transferência de massa entre a fração de gelo e a solução já concentrada. Na crioc Concentração, é considerada importante a formação do cristal de gelo, o crescimento dos mesmos e a sua reorganização. Dependendo como é formada essa estrutura cristalina, é que são determinados os tamanhos dos cristais e a sua distribuição, sendo que um dos parâmetros de controle utilizados no crescimento desses cristais, é a velocidade de congelamento. O crescimento dos cristais, pode ser controlado pela quantidade de calor liberada durante a mudança de fase, e pela taxa de transferência de massa (PETZOLD; NIRANJAN; AGUILERA, 2013; SÁNCHEZ *et al.*, 2011).

Os processos de crioc Concentração apresentam vantagens quando comparados a outros métodos de concentração que utilizam altas temperaturas e até mesmo empregam pressões reduzidas (como no caso da evaporação e da osmose inversa), pois diminuem a deterioração química, a perda de compostos voláteis, preservam as propriedades sensoriais e os compostos termicamente sensíveis, como vitaminas e polifenóis (LAZAROTTO, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2017). Para processos que visam a concentração de líquidos através do uso de baixas temperaturas, é importante entender as etapas que ocorrem durante esse procedimento e quais os melhores métodos para isso. Com foco em alimentos, existem diferentes tipos de crioc Concentrações, que diferem entre si pelos mecanismos de formação de cristais de gelo, pode-se citar como uma delas a crioc Concentração em blocos (AIDER; ONUS, 2011; ORELLANA-PALMA *et al.*, 2017).

1.4.1 Crioc Concentração por blocos com degelo gravitacional

A crioc Concentração por blocos consiste no congelamento total da amostra, seguida pelo descongelamento parcial (50% da amostra inicial) através de gravidade, obtendo assim duas frações, que são chamadas de concentrado e gelo. O concentrado será utilizado como solução inicial para o próximo estágio, e o gelo deverá conter o mínimo de sólidos, sendo que podem ser realizados diversos estágios de crioc Concentração (AIDER; ONUS, 2011; BÉLEN *et al.*, 2012). No processo de crioc Concentração é possível determinar a eficiência desse processo a partir da quantidade de impurezas presentes no gelo de cada estágio. O bloco de gelo acaba funcionando como um caminho, onde o líquido rico em sólidos passa. No processo de

crioconcentração, para possibilitar uma alta eficiência do processo, é necessário que seja feito um controle da temperatura de descongelamento, resultando numa quantidade menor de sólidos no gelo e aumentando a eficiência da crioconcentração (AIDER; DE HALLEUX; AKBACHE, 2007; LAZAROTTO, 2021; SÁNCHEZ *et al.*, 2011). A crioconcentração por blocos é uma tecnologia emergente, pois tem-se obtido produtos alimentícios com maior valor nutricional e portanto, maior preservação de nutrientes (AIDER; ONUS, 2011; LAZAROTTO, 2021).

O consumo energético no processo de crioconcentração é bem menor quando comparado a um sistema que utilize calor como forma de concentração, como no caso da evaporação, pois o calor latente de solidificação da água é de 335 kJ/kg, enquanto o de evaporação é de 2260 kJ/kg (AIDER; OUNIS, 2011; JUSOH; YOUNS; HASSAN, 2008; PETZOLD *et al.*; 2015).

Para se alcançar a melhor eficiência no processo, é necessário encontrar as melhores condições termodinâmicas, compreendendo os processos de transferência de calor e massa que ocorrem a cada etapa do processo. É importante compreender o que pode interferir no crescimento dos cristais de gelo, evitando a retenção de sólidos no mesmo. O congelamento é extremamente dependente das propriedades relacionadas ao produto, assim, conhecer os fatores que interferem de alguma forma nas mudanças de estado na polpa é fundamental (AIDER; OUNIS, 2011; FERNANDES *et al.*, 2010; OJEDA *et al.*, 2017). Fernandes *et al.* (2010) observou que a adição de aditivos como sacarose as polpas de frutas, interferem no crescimento dos cristais de gelo, pois mostram que existe um efeito interativo sobre a viscosidade, podendo interferir na velocidade de congelamento. Blanquet *et al.* (2005), observou que a presença de componentes como a lactose, interferem nas taxas de crescimento e maturação dos cristais de gelo.

REFERÊNCIAS

- AIDER, M.; DE HALLEUX, D.; AKBACHE, A. Whey cryoconcentration and impact on its composition. **Journal of Food Engineering**, v. 82, n. 1, p. 92–102, sep. 2007.
- AIDER, M.; OUNIS, W. B. Skim milk cryoconcentration as affected by the thawing mode: gravitational vs. microwave-assisted. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 1, p. 195–202, nov. 2011.
- AGUIAR, T. M. *et al.* Caracterização química e avaliação do valor nutritivo de sementes de acerola. **Nutrire**, v. 35, n. 2, p. 91-102, ago. 2010.
- BARROS, V.M. **Influência do processamento de secagem nos teores de compostos bioativos e antinutricionais em farinha de resíduo de acerola**. 2019. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2019.
- BARROS, E. L. DA S. *et al.* Effect of replacement of milk by block freeze concentrated whey in physicochemical and rheological properties of ice cream. **Food Science and Technology**, v. 42, apr. 2021.
- BELÉN, F. *et al.* One option for the management of wastewater from tofu production: Freeze concentration in a falling-film system. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 3, p. 364–373, jun. 2012.
- BLANQUET, S. *et al.* Effects of cryoprotectants on the viability and activity of freeze dried recombinant yeasts as novel oral drug delivery systems assessed by an artificial digestive system. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 61, n. 1-2, p. 32–39, sep. 2005.
- BOAVENTURA, B. C. B. *et al.* Enhancement of bioactive compounds content and antioxidant activity of aqueous extract of mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) through freeze concentration technology. **Food Research International**, v. 53, n. 2, p. 686–692, oct. 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 1, de 07 de janeiro de 2000. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 10 janeiro 2000. Seção 1, p. 54. Disponível em: <
[https://sogi8.sogi.com.br/Manager/texto/arquivo/exibir/arquivo?eyJ0eXAiOiJKV1QiLCJhbGciOiJIUzI1NiJ9AFFIjAvMTAwNi9TR19SZXF1aXNpdG9fTGFnYWxfVGV4dG8vMC8wL0RPQ1VNRU5UTyAxLnBkZi8wLzAiAFF-PrY0AgIRKZ-v7L2u54yTTXEsLtTom6nh_2Ohh3bv6A](https://sogi8.sogi.com.br/Manager/texto/arquivo/exibir/arquivo?eyJ0eXAiOiJKV1QiLCJhbGciOiJIUzI1NiJ9AFFIjAvMTAwNi9TR19SZXF1aXNpdG9fTGFnYWxfVGV4dG8vMC8wL0RPQ1VNRU5UTyAxLnBkZi8wLzAiAFF-PrY0AgIRKZ-v7L2u54yTTXEsLtTom6nh_2Ohh3bv6A>)> . Acesso em: 5 abr. 2022.
- CANELLA, M. H. M. *et al.* Performance of Skim Goat Milk Mineral Content Subjected to the Block Freeze Concentration Process. **Asian Journal of Advances in Agricultural Research**, v. 9, p. 1–9, 27, may. 2019.
- CARNEIRO, A. P. De G. **Encapsulação de subproduto industrial de acerola em matriz composta de goma arábica e maltodextrina para aplicação em alimentos:**

desenvolvimento, caracterização e estabilidade. 2017. 115 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

DELVA, L.; GOODRICH-SCHNEIDER, R. Antioxidant activity and antimicrobial properties of phenolic extracts from acerola (*Malpighia emarginata* DC) fruit. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 48, n. 5, p. 1048–1056, jan. 2013.

FERNANDES, T. N. *et al.* Relação entre o comportamento reológico e a dinâmica do congelamento e descongelamento de polpa de morango adicionada de sacarose e pectina. **Food Science and Technology**, v. 30, p. 188–204, mar. 2010.

FERREIRA, A. L. **Avaliação da capacidade antioxidante, proliferativa e/ou antitumoral dos extratos de acerola.** 2020. 40 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.

FIDÉLIS, J. M. A. S. **Processamento de frutas para produção de polpa congelada.** 2018. 17 p. Relatório de estágio supervisionado (Bacharelado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2018.

FIGUEIREDO NETO, A. *et al.* Determinação de vitamina C e avaliação físico-química em três variedades de acerola cultivadas em Petrolina-PE. **Nucleus**, v. 11, n. 1, abr. 2014.

HAAS, I. C. da S. **Resíduo obtido do processamento do suco de uva: caracterização e cinética de secagem.** 2015. 124 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

HAAS, I. C. DA S. *et al.* Gravitational assisted three-stage block freeze concentration process for producing enriched concentrated orange juice (*Citrus sinensis* L.): Multi-elemental profiling and polyphenolic bioactives. **Journal of Food Engineering**, v. 315, 110802, feb. 2022.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo agropecuário.** Características gerais das produções agropecuária e extrativista, segundo a cor ou raça do produtor e recortes territoriais específicos. 2017. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/3101/agro_2017_caracteristicas_gerais.pdf. Acesso em: 20 Out. 2022

JUSOH, M.; MOHD YUNUS, R.; ABU HASSAN, M. Effect of Flowrate and Coolant Temperature on the Efficiency of Progressive Freeze Concentration on Simulated Wastewater. **World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering**, v. 2, p. 308-312, 2008.

LAZAROTTO, S. R. da S. **Avaliação termoanalítica e cromatográfica de amidos incorporados com extratos criococentrados de erva-mate.** 2021. 80 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2021.

LIZ, G. R. de. *et al.* Stability of bifidobacteria entrapped in goat's whey freeze concentrate and inulin as wall materials and powder properties. **Food Research International**, v. 127, 108752, jan. 2020.

MANACH, C. *et al.* Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727–747, may. 2004.

MERCALI, G. D. *et al.* Ascorbic acid degradation and color changes in acerola pulp during ohmic heating: Effect of electric field frequency. **Journal of Food Engineering**, v. 123, p. 1–7, feb. 2014.

MUNOZ, I. DE B. *et al.* Potential of Milk Freeze Concentration for the Production of Functional Fresh Cheeses. **Advance Journal of Food Science and Technology**, v. 13, n. 5, p. 196–209, jul. 2017

NEPA. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **Tabela brasileira de composição de alimentos (TACO)**. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011. Disponível em: <<https://www.nepa.unicamp.br/>>. Acesso em: 28 nov. 2022.

NOGUEIRA, F. S. **Teores de ácido L-Ascórbico em frutas e sua estabilidade em sucos**. 2011. 84 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2011.

OJEDA, A. *et al.* Effect of Process Parameters on the Progressive Freeze Concentration of Sucrose Solutions. **Chemical Engineering Communications**, v. 204, n. 8, p. 951–956, jun. 2017.

OLIVEIRA, A. C. de. *et al.* Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 469–475, jul. 2009.

OLIVEIRA, L. S. **Avaliação do metabolismo antioxidante durante o desenvolvimento de frutos de clones de aceroleira e sapotizeiro**. 2012. 109 p. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

OLIVEIRA, S. D. de. **Avaliação de compostos bioativos de coprodutos do processamento de acerola e goiaba fermentados com isolados de *Lactobacillus* potencialmente probióticos**. 2020. 71 p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Nutrição) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2020.

ORELLANA-PALMA, P. *et al.* Impact of block cryoconcentration on polyphenol retention in blueberry juice. **Food Bioscience**, v. 20, p. 149–158, dec. 2017.

PETZOLD, G.; NIRANJAN, K.; AGUILERA, J. M. Vacuum-assisted freeze concentration of sucrose solutions. **Journal of Food Engineering**, v. 115, n. 3, p. 357–361, apr. 2013.

PETZOLD, G. *et al.* Block freeze concentration assisted by centrifugation applied to blueberry and pineapple juices. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 30, p. 192–197, aug. 2015.

RIVEROS, A. L. R. **Estudo de estabilidade do suco misto de acerola e ciriguela atomizado**. 2019. 68 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2019.

RIBEIRO, M. C. *et al.* The effects of roasted yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. ST. Hil.) consumption on glycemia and total serum creatine phosphokinase in patients with traumatic brain injury. **Journal of Functional Foods**, v. 28, p. 240–245, jan. 2017.

RITZINGER, R; RITZINGER, C. H. S. P. Acerola. **Informe Agropecuário: Cultivo tropical de fruteiras**, v.32, n.264, p.17-25, 2011. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/915423/1/AcerolaRITZINGERRogerio.pdf>>. Acesso em: 12 jun. 2022.

ROCHA, A. J. L. C. **Avaliação do potencial antimicrobiano do extrato de acerola**. 2019. 59 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

ROUTRAY, W.; ORSAT, V. Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, p. 409–424, apr. 2011.

SÁNCHEZ, J. *et al.* Review: Freeze Concentration Technology Applied to Dairy Products. **Food Science and Technology International**, v. 17, n. 1, p. 5–13, feb. 2011.

SANTOS, R. O. **Avaliação físico-química de acerola cv. Junko cultivada em Petrolina-PE**. 2016. 42 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Engenharia Agrônoma) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano campus Petrolina, Petrolina, 2016.

SILVEIRA, K. G. **Caracterização físico-química e bioaccessibilidade de compostos fenólicos de sucos e cascas de laranja e limão**. 2019. 56 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

SOARES, S. C. M. D. **Secagem das polpas de acerola (*Malpighia emarhonata* DC) e goiaba (*Psidium guajava* L.) em leite de jorro: efeitos da adição do leite e da proteína do leite no desempenho do processo e caracterização do produto em pó**. 2019. 112 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia punicifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, n. 2, p. 195–198, nov. 2000.

CAPÍTULO 2

An opportunity of acerola pulp (*Malpighia emarginata* DC) valorization by the use of block cryoconcentration process: performance, physicochemical, bioactive compounds and multi-elemental profile characterization

An opportunity of acerola pulp (*Malpighia emarginata* DC) valorization by the use of block cryoconcentration process: performance, physicochemical, bioactive compounds and multi-elemental profile characterization

Karine Marafon^a, Isabel Cristina da Silva Haas^{b*}, Bruna Rafaela da Silva Monteiro Wanderley^b, Jefferson Santos de Gois^c, Aderval S. Luna^c, Maria Helena Machado Canella^a, Eduard Hernández^d, Renata Dias de Mello Castanho Amboni^b, Elane Schwinden Prudencio^{a*}

^aPostgraduate Program in Food Engineering, Technology Center, Federal University of Santa Catarina, Trindade, Florianópolis, SC, Brazil.

^bDepartment of Food Science and Technology, Agricultural Sciences Center, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil.

^cDepartment of Analytical Chemistry, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

^dDepartment of Agri-Food Engineering and Biotechnology, Universitat Politècnica de Catalunya BarcelonaTech, 8. 08860, Castelldefels, Barcelona, Spain.

* Corresponding authors: +55 48 3721 5379 (E.S. Prudencio); +55 48 3721 5371 (I. C. S. Haas).
E-mail addresses elane.prudencio@ufsc.br, isabelhaas91@gmail.com.

ABSTRACT

In the present study was evaluated the effect of three stages of acerola pulp block cryoconcentration. Both fractions (concentrate and ice) from the cryoconcentration process were evaluated to determine the performance, physicochemical composition, bioactive compounds and multi-elemental profile behavior. In the third stage, better results were obtained for the concentration factor, for the process efficiency, for the total soluble solids content, for the red color intensity, and in the increasing form of the following elements: Cu, Ca, S, Sr, K, Mn, Na, P, Mg, Fe. It is worth mentioning that all stages showed a good performance in relation to the total soluble solids content; an increase in the titratable acidity of concentrates,; an progressive increase of red color intensity, but with color differences that are noticeable to the naked eye. Overall, higher total phenolic and antioxidante activity contents were found for concentrates 2 and 3. Positively, metallic elements contents (Al, Cd, Co, Cr, and Pb) were below to the detection limits. During the cryoconcentration process, it was observed a decrease for the vitamin C content, moisture content, density values; and Cu, Sr and Zn elements.

Keywords: Bioactive compounds, functional properties, elemental composition, freeze concentration, acerola.

RESUMO

Nesste estudo foi avaliado o efeito de três estágios de crioconcentração de blocos de polpa de acerola. Ambas as frações (concentrado e gelo) do processo de crioconcentração foram avaliadas para determinar o desempenho, a composição físico-química, os teores de compostos bioativos e o comportamento do perfil multielementar. Na terceira etapa da crioconcentração foram obtidos melhores resultados para o fator de concentração, para a eficiência do processo, para o teor de sólidos solúveis totais, para a intensidade da cor vermelha e de forma crescente os seguintes elementos: Cu, Ca, S, Sr, K, Mn, Na, P, Mg, Fe. Vale ressaltar que todas as etapas apresentaram bom desempenho em relação ao teor de sólidos solúveis totais; um aumento da acidez titulável dos concentrados; um aumento progressivo da intensidade da cor vermelha, mas com diferenças de cor perceptíveis ao olho nu. Em geral, maiores teores de atividade fenólica total e antioxidante foram encontrados para os concentrados 2 e 3. Positivamente, os teores de elementos metálicos (Al, Cd, Co, Cr e Pb) ficaram abaixo dos limites de detecção. Durante o processo de crioconcentração, observou-se diminuição nos valores de teor de vitamina C, teor de umidade, densidade; e dos elementos Cu, Sr e Zn.

Palavras-chave: Compostos bioativos, propriedades funcionais, composição elementar, concentração por congelamento, acerola.

1 INTRODUCTION

Acerola (*Malpighia Emarginata* DC) is a fruit native to Central America, cultivated in regions with a subtropical climate. Brazil is the largest producer of the fruit, in 2017 the production volume reached approximately 70 thousand tons, with the northeast responsible for most of the country's production (IBGE, 2022). Acerola is a fruit rich in ascorbic acid and phytochemical compounds, possessing several biochemical properties that help in the conservation of human health. Vitamin C is present in large amounts, being one of the fruits that most contain this vitamin with functionality appeal (MEZADRI *et al.*, 2008). As the availability of this fruit is seasonal, its maturation is fast and being a sensitive fruit, the processing of the fruit is fundamental. Acerola pulp has been a viable alternative for the commercialization and consumption of the fruit throughout the year, avoiding waste. It must come from ripe and fresh fruits, with a color ranging from orange to red (PRAKASH; BASKARAN, 2018; RITZINGER, 2011).

The industry has shown interest in exploring foods with functional concepts, being able to concentrate even more bioactive compounds, reducing their losses, bringing about the search for different concentration techniques, in order to produce more nutritious and healthy foods (OZKAN *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2018). In this search, cryoconcentration stands out because it preserves the thermosensitive compounds of the food. This technology consists of frozen food concentration. The block cryoconcentration process is based on total freezing of the solution, followed by partial gravitational thawing, obtaining two fractions, being one the concentrated fraction, which could serve as the feed fluid for the next stage; and the other the ice fraction. Thus, separation of solid-liquid phases occurs using low temperatures, being able to preserve sensitive vitamins and minerals, as it decreases enzymatic and microbiological activity (BELÉN *et al.*, 2012; SÁNCHEZ *et al.*, 2011).

Cryoconcentration is a promising process for the concentration of thermosensitive compounds, being a viable alternative that makes it possible not only to preserve the nutritional value of food, its color, but also to maintain the functional compounds of interest (BELÉN *et al.*, 2012; MORENO *et al.*, 2014). It is noteworthy that the Haas *et al.* (2022) stated that the block cryoconcentration process it is considered a green technology that requires lower energy costs, and presents higher separation efficiency, when compared with others cryoconcentration techniques. Worth mentioning that block cryoconcentration also has advantages over traditional evaporation processes. It must be considered that sometimes the

traditional evaporation process uses high temperatures or even when using a vacuum, it still uses higher temperatures than when the product is submitted to the block cryoconcentration process.

There are studies that highlight the cryoconcentration of fruits juices as an expanding technology, such as the orange juice (HAAS *et al.*, 2022), the strawberry juice (ADORNO *et al.*, 2017), and the blueberry juice (ORELLANA-PALMA *et al.*, 2017). However, it is worth mentioning that such an in-depth study regarding the behavior of acerola pulp, aiming to increase its market value by the cryoconcentration process, has not yet been carried out. Another advantage of obtaining a concentrated product would be its ease of transportation.

Based on the previously studies realized with cryoconcentration of fruit juices and pulp, the aim of the present study was to assess the effect of three-stages of the block cryoconcentration of acerola pulp. Both fractions obtained from the cryoconcentration process at each stage of cryoconcentration (concentrated and ice), were evaluated to determine the best process stage, aiming at the valorization of the acerola pulp in relation to its performance, physicochemical, bioactive compounds and multi-elemental profile properties.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 MATERIALS

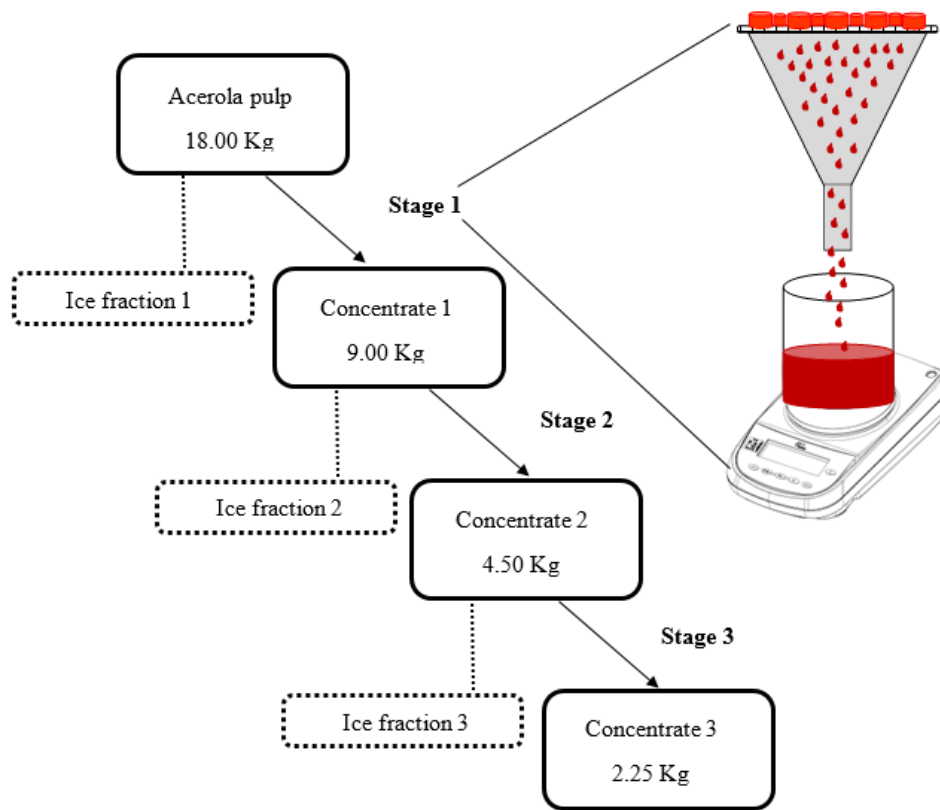
The acerola pulp (DeMarchi, São Paulo, Brazil) submitted to the cryoconcentration had the following composition: 6.76 (°Brix) of total soluble solids, 700 mg/100g of ascorbic acid, and pH of 3.5.

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), Folin-Ciocalteu reagent, Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic), gallic acid and catechin standards were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, USA). Certified standard solutions (1000 mg/L) that were used in the calibration curves of each element (Ca, Fe, Mg, K, Zn, Cu, Se, P, Na) were purchased from Spex Certiprep Chemical (Metuchen, New Jersey, USA). All others reagents used were of analytical grade.

2.2 CRYOCONCENTRATION PROCESS IN BLOCK WITH GRAVITACIONAL THAWING OF THE ACEROLA PULP

To perform the cryoconcentration, the devices used were based on the methodology described by Aider *et al.* (2007), where we used a stainless steel screen that was attached above a glass funnel, a tripod, a 500 mL beaker and a branded semi-analytical balance (Mettler Toledo, ME, São Paulo, Brazil) (Figure 2.1). An 18 kg sample was separated into 10 batches and placed in 100 mL silicone rectangular shapes, with dimensions of 5.5 cm x 8.0 cm x 2.3 cm. The samples were frozen at -18 ± 2 °C, in a freezer (Brastemp, BRM44H, São Paulo, Brazil) through indirect cooling. The frozen blocks were removed from the refrigerator and placed at each stage on the steel screen, where the ambient temperature was maintained at 20 ± 1 °C, and gravitational thawing was allowed until reaching 50% of the initial weight, the sample that was retained on the steel screen, and called of ice from the first stage of cryoconcentration process, while the thawed fraction was denoted as concentrate from the first stage. The first concentrate from all batches was mixed, and served as the second stage feed fluid, being refrozen at -18 ± 2 °C, and the thawing process repeated until 50% of the initial weight, and then it was obtained the concentrate and ice fractions from the second stage of cryoconcentration process. The concentrated of the second stage from all batches were mixed and served as the feed fluid for the third stage, following the same thawing procedure. Samples of retained ice and concentrate fractions were taken at all stages in order to carry out the necessary analyses.

Figure 2.1 Block cryoconcentration flowchart of acerola pulp.



Fonte: Author (2023).

2.3 PERFORMANCE OF THE CRYOCONCENTRATION PROCESS

2.3.1 Concentration factor (CF)

To calculate the concentration factor (CF), the methodology proposed by Aider and Ounis (2012) was used, where the calculation is performed by increasing the concentration of the solution (total soluble solids) in relation to the initial sample of acerola pulp. The concentration factor can be calculated by Equation (1). Total soluble solids (°Brix) were determined using an analog refractometer (Akso, RHB32, RHB62, São Leopoldo, Brazil), and measurements were performed at an ambient temperature of 20 ± 1 °C.

$$CF(\%) = \frac{SC_i}{SC_o} \times 100 \quad (1)$$

where SC_i is the total soluble solids content (°Brix) in each stage of the concentrate, and SC_o is the total soluble solids content (°Brix) in the initial sample of acerola pulp.

2.3.2 Process efficiency (PE)

According to Belén et al. (2012), when we decrease the concentration of total soluble solids in the ice fraction, the greater the concentration in the concentrate. From Equation (2) the process efficiency was calculated.

$$PE(\%) = \frac{SCi-SG}{SCi} \times 100 \quad (2)$$

where SCi is the total soluble solids content (°Brix) in each stage of the concentrate, and SG is the total soluble solids (°Brix) in the ice fraction.

2.3.3 Concentrate balance

To validate the obtained experimental results, a mass balance was made and compared to a theoretical value. The mass balance allows monitoring and evaluating the performance and yield of cryoconcentration at each stage, being able to measure the solids that are retained in the ice, proving and validating the experiments. To evaluate the experimental results at each stage, the results of the total soluble solids content (°Brix) of the pulp, of each concentrate and ice were used. The methodology used was based on Sánchez *et al.* (2011). Experimental W is a ratio between the initial mass (kg) by the mass of solids in the ice (kg). For this, a comparison was made between the mass found experimentally and the mass of ice remaining at each stage, according to Equation (3)

$$W_{theo} = \frac{Ci-Cf}{Cge-Cf} \quad (3)$$

where Ci is the initial total soluble solids content (°Brix) concentration of acerola, Cf is the total soluble solids content (°Brix) concentration of the concentrate and Cge is the total soluble solids content (°Brix) in the ice fractions. To determine the deviation between the experimental and theoretical data, Equation (4) was used, which is the deviation from the root mean square (RSM).

$$RSM (\%) = \sqrt{\frac{(W_{exp}-W_{theo})^2}{\frac{W_{exp}}{N}}} \times 100 \quad (4)$$

where Wexp represents the experimental values of the ice mass found, Wtheo represents the predicted values of the ice mass, and N represents the number of repetitions performed.

2.4 PHYSICOCHEMICAL ANALYSIS

Physicochemical analysis were performed on acerola pulp, on concentrate fractions and on ice of three stages of block cryoconcentration. To determine the total soluble solids (°Brix),

an analog refractometer (Akso, RHB32, RHB62, São Leopoldo, Brazil) was used at room temperature of 20 ± 1 °C. The pH was determined in a digital pH meter (Mettler Toledo, FiveEasy F20, São Paulo, Brazil) (20 ± 1 °C). The determination of titratable acidity was realized using the standard titration method, the results were expressed % of citric acid. For total solids content determination was used the gravimetric method, at a temperature of 105 ± 1 °C, and the results were expressed as g/100g (IAL, 2008). The density (g/cm³) was determined according to AOAC (2005), by a glass pycnometer, using the Equation (5).

$$\rho_s = \frac{(m_3 - m_1)}{(m_2 - m_1) \times \rho_w} \quad (5)$$

where ρ_s is the density of each one sample (g/cm³), m_1 is the mass of empty pycnometer (g), m_2 is the mass of pycnometer with water (g), m_3 is the mass of pycnometer with each one sample (g), and ρ_w is the density of water.

The color was determined by the Cielab method, where the luminosity is represented by L^* , ranging from black (0) to white (100), a^* represents the component from red (+ a^*) to green (- a^*), and b^* represents the component from yellow (+ b^*) to blue (- b^*). To perform the color analysis was used a colorimeter (Minolta Chroma Meter CR-400, Minolta, Osaka, Japan) the luminant condition D65 and observation angle of 10°.

To calculate the total color difference (ΔE) Equation (6), the methodology based on Saricoban and Yilmaz (2010) and, Himmetagaoglu and Erbay (2019), using the Equation (6)

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad (6)$$

where ΔL is the difference in luminosity, Δa is the difference in parameter a^* and Δb represents the difference in parameter b^* between two samples.

The concentration of vitamin C (ascorbic acid) was determined by the Tillmans method, which consists of reducing 2,6-dichlorophenolindophenol by ascorbic acid (AOAC, 2005), and results were expressed as mg ascorbic acid/100 mL.

2.5 TOTAL PHENOLIC AND ANTIOXIDANT ACTIVITY

The samples were analyzed for total polyphenol content using the Folin-Ciocalteu method (SINGLETON; ROSSI, 1965). The absorbance of the samples was measured at 765 nm using a UV-VIS spectrophotometer (model U-1800, Hitachi, Kyoto, Japan), the results were expressed in mg of gallic acid equivalents per mL of sample.

The antioxidant capacity was determined by the DPPH (free radical scavenging method), FRAP (ferric reducing antioxidant potential method) and ABTS+ (free radical

scavenging activity method) methods. DPPH was performed according to Brand-Willians *et al.* (1995), which basically consists of reducing the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl in the presence of an antioxidant. The reading was performed at the absorbance of 517 nm and the results were expressed in trolox $\mu\text{M TEAC/mL}$. For the ABTS+ free radical scavenging activity, the methodology described by Re *et al.* (1999), which is based on the reduction in the presence of hydrogen donor antioxidants. The absorbance was read at 734 nm and the results were expressed in Trolox $\mu\text{M TEAC /mL}$.

In the ferric reducing antioxidant potential method (FRAP), the methodology described by Benzie and Strain (1996), this method is based on the reduction of the ferric complex (Fe^{3+} -2,4,6-tripyridyl-s-triazine), by the use of antioxidant compounds. The absorbance of the sample was read at 620 nm, and the results were expressed as trolox equivalent antioxidant activity ($\mu\text{M TEAC/mL}$). All analyzes were performed in triplicate, and were performed in a UV-Vis spectrophotometer (model U-1800, Hitachi, Japan).

2.6 MULTI-ELEMENTAL PROFILE

To determine the multi-elemental profile of the samples was used an inductively coupled plasma optical emission spectrometer (ICP OES) Model iCAP 6000 (Thermo Analytica, USA), and argon with 99.95% purity was used as main, auxiliary and nebulizer gas (Linde, Blumenau, Santa Catarina, Brazil). The operating parameters are described in the following Table (S1), and emission lines for each element in Table (S2). The mineral elements that will be determined were chosen from the study by Freitas *et al.* (2006), where the selected elements are Ca, Fe, Mg, K, Zn, Cu, Se, P and Na, but we add other minerals that become important in foods, such as Cd, Co, Cr, Mn, Pb, S and Sr.

The samples were prepared and previously digested in a microwave (Microwave Reaction System/Multiwave PRO model, Anton Paar, Graz, Austria). Thus, 5 mL of sample and 3 mL of 65% nitric acid were added at a power of 1500 W at times /temperatures ($^{\circ}\text{C}$): 3/85, 5/125, 22/160 and ventilation was maintained for 16 minutes. After digestion, the samples were made up to 20 mL with ultrapure water (CINDRIC *et al.*, 2011).

Calibration curves were prepared using standard solutions with a concentration of 100 mg/L, being diluted in 1% nitric acid. The samples were stored under refrigeration, analyzed at room temperature and previously diluted 1:2, 1:5, 1:10, 1:50 and 1:100.

2.7 STATISTICAL ANALYSIS

All samples were produced in triplicates, and three parallel measurements were made for each replication. Data analysis was performed using the STATISTICA 13.3 *software* (TIBCO Software Inc., Palo Alto, USA). The results were expressed as mean \pm standard deviation. To determine significant differences ($p < 0.05$), Analysis of variance, Tukey's HSD test and Pearson's correlation test (95% confidence level) were carried out.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 PERFORMANCE OF THE CRYOCONCENTRATION PROCESS

Table 3.1 shows the values of the concentration factor (CF) and of the process efficiency (PE) for each cryoconcentration stage, in relation to the total soluble solids ($^{\circ}$ Brix) obtained for the concentrate and ice fractions. The lowest concentration factor and process efficiency values were found for the stage 1, while the highest values were found in the third stage of acerola pulp block cryoconcentration. It was observed a positive correlation between the concentration factor and the process efficiency ($r = 0.93$). According to Raventòs *et al.* (2007) a priori, it would be reasonable to assume that efficiency would decrease considerably with increased concentration, since the amount of ice of the block decreases over the length of the process. These authors stated that this is so because the weight of ice during the cryoconcentration process also decreases. This behavior was noted by Hass *et al.* (2022), in which the correlation between FC e PE was negative for the orange juice. However, different behaviors could be obtained for different types of juices. Hernandez *et al.* (2009) related that for juices the correlation between FC and PE refers to the amount of sugar remaining in the ice fraction. Auleda *et al.* (2011) concluded that based on the relative concentrations of sugars (glucose, fructose and sucrose) present in a juice there is different freezing point of the juice. These differences are related to the equivalent molecular weight of sugar, and its retention in ice fraction. Zhang and Ritenour (2016) affirmed that in the orange juice the main sugars present are glucose < fructose < sucrose. Ferreira *et al.* (2021) highlighted that the composition of sugars observed in acerola juice is glucose and fructose. According to Raventòs *et al.* (2007) it can be noted that the amount of ice separated is greater in the case of fructose and lesser in the case of sucrose, which would explain the different results obtained by Haas *et al.* (2022), when compared to those of the present study.

Table 3.1 Results (mean±standard deviation) for concentration factor (CF) and process efficiency (PE) of three stages of acerola pulp block cryoconcentration process.

	CF (%)	PE (%)	<i>r</i>
Stage 1	127 ^c ±0.01	46.35 ^c ±0.73	
Stage 2	181 ^b ±0.01	66.07 ^b ±0.25	0.93
Stage 3	270 ^a ±0.03	78.52 ^a ±0.34	

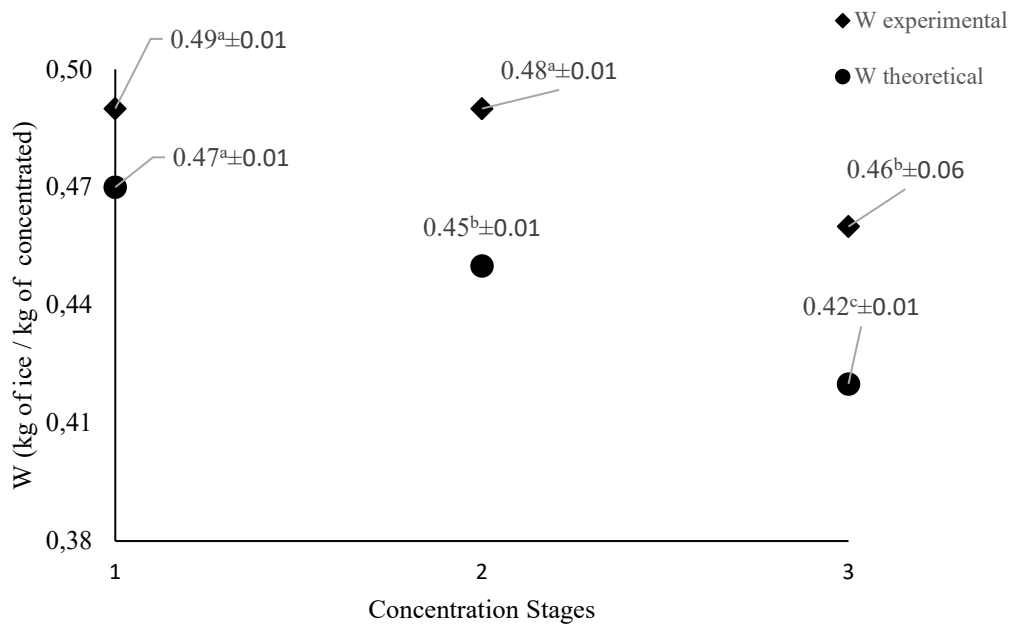
Concentration factor and efficiency results calculated based on the soluble solids content at each freeze concentration stage (1, 2, 3).

The values of parameters were used to obtain the Pearson's correlation coefficient (*r*).

^{a,b} Different superscript letters on the same column, indicate significant difference ($p < 0.05$).

In Figure 3.1, when comparing the theoretical data obtained by the mass balance in each stage of cryoconcentration with the formed ice, using the total soluble solids (°Brix) value, it was possible to observe an approximation between theoretical and experimental data. The root mean square (RSM) values found in the process were 4.71% in the first stage, 9.11% in the second and 12.35% in the third stage of block cryoconcentration process. From these values it was possible to observe a good adjustment in the cryoconcentration process, because according to Sánchez *et al.* (2010) this fact could be affirmed when RSM values are below than 25%. For tests using the same type of cryoconcentration process with three stages, for goat milk and cheese whey, Canella *et al.* (2019) and Barros *et al.* (2022) reached RSM values $\leq 12.2\%$ and 19.04%, respectively.

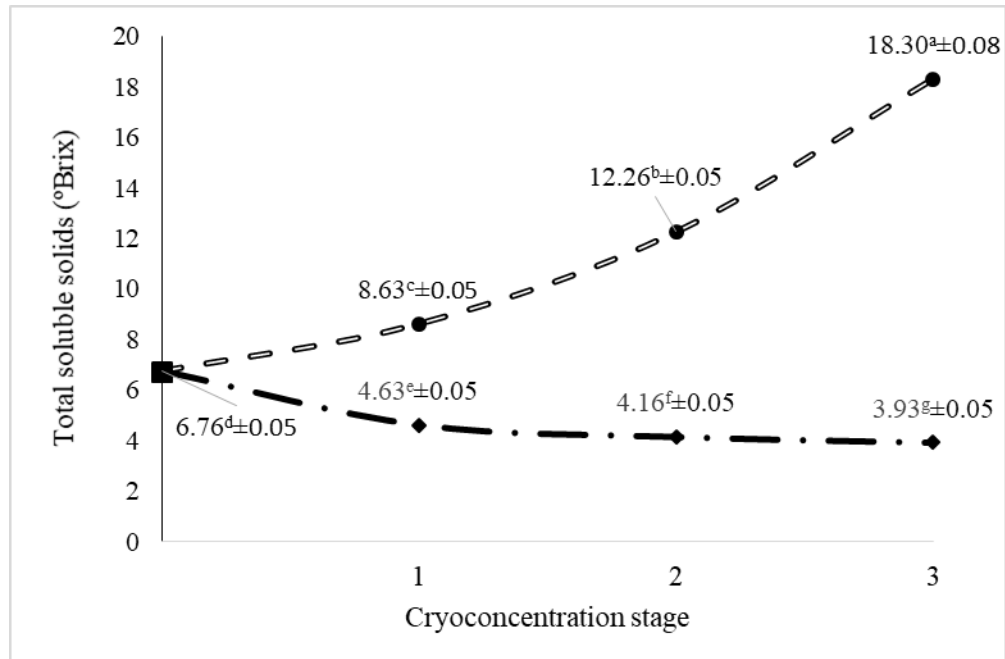
Figure 3.1 Experimental and predicted ice mass ratio of acerola pulp block cryoconcentration process



3.2 PHYSICOCHEMICAL ANALYSIS

The results of the physicochemical analysis from the three stages of cryoconcentrate samples (concentrate and ice fractions) are shown in Figure 3.2. There was an increase in the concentration of total soluble solids during acerola pulp block cryoconcentration, being equal to 8.63 to 18.3 °Brix for the concentrate fractions, and 4.63 to 3.93 °Brix for the ice fractions. Furthermore, it was observed an increase of total soluble solids of 27.70%, 81.36% and 170.71% in the concentrate of the first, second and third stages of cryoconcentration, respectively, when compared to the acerola pulp. It was possible to note that the concentrations of total soluble solids in the concentrate and ice fractions were still higher than the acerola pulp. The increase in total soluble solids contents was consistent for all stages, being that the highest increase was observed in the third stage. Similar behavior was found by Orellana-Palma *et al.* (2017) and Qin *et al.* (2021), for blueberry juice and apple juice, during the increase of cryoconcentration stages. Haas *et al.* (2022) stated that in relation to the total soluble solids determination, it noteworthy that these findings are attractive because it can assist juice producers to easily monitoring juice parameters (simple °Brix determination).

Figure 3.2 Total soluble solids ($^{\circ}$ Brix) of acerola pulp, concentrates fractions and ice fractions in three stages of block cryoconcentration process. Results are expressed as mean \pm standard deviation (n=3)



^{a-g} Different superscript letters indicate statistical difference between the samples ($p < 0.05$).

The physicochemical results are shown in Table 3.2. In spite of being verified differences ($p < 0,05$) between the pH values of the acerola pulp, of the concentrates and of the ice fractions, but these differences were not so relevant. The titratable acidity of all the three concentrates were much higher ($p < 0.05$) than those obtained for the acerola pulp. The increase ($p < 0.05$) of the titratable acidity of the concentrate fractions increase in relation to the initial juice, however the titratable acidity of ice fractions not showed differences ($p > 0.05$). According to Casas-Forero *et al.* (2020) the increase of titratable acidity can occur due to the increase of organic acids during the concentration process. As expected, during the three stages of cryoconcentration process the moisture content decrease ($p < 0.05$) obviously by the passage of solids to the concentrate fractions. The density of concentrate noticeably increased ($p < 0.05$) with stages of concentration and was mainly higher for concentrates than their ice fractions. This fact reinforces that the process was efficient in the retaining of solids in the concentrate, and can be related with the CF and PE values obtained, which could be visualized in the Table 3.1.

Table 3.2 Physicochemical results (mean±standard deviation) for acerola pulp, concentrates fractions and ice fractions in three stages of block cryoconcentration process.

	Acerola pulp	Stage 1		Stage 2		Stage 3	
		Concentrate	Ice	Concentrate	Ice	Concentrate	Ice
pH	3.48 ^b ±0.01	3.30 ^e ±0.01	3.31 ^e ±0.01	3.79 ^a ±0.01	3.42 ^d ±0.01	3.45 ^c ±0.01	3.27 ^f ±0.01
Titrateable acidity (% citric acid)	0.15 ^d ±0.01	0.30 ^c ±0.01	0.10 ^e ±0.01	0.45 ^a ±0.01	0.10 ^e ±0.01	0.40 ^b ±0.01	0.10 ^e ±0.01
Moisture (g/100g)	99.25 ^c ±0.08	99.14 ^d ±0.01	99.27 ^c ±0.02	98.65 ^e ±0.13	99.76 ^a ±0.03	98.33 ^f ±0.06	99.62 ^b ±0.01
Density (g/mL)	1.01 ^c ±0.01	1.02 ^{bc} ±0.01	1.01 ^c ±0.01	1.04 ^{ab} ±0.01	1.00 ^c ±0.01	1.05 ^a ±0.01	1.00 ^c ±0.01
L*	38.93 ^b ±0.69	32.53 ^d ±0.04	43.35 ^a ±0.15	31.72 ^e ±0.05	33.14 ^c ±0.03	31.76 ^e ±0.04	33.41 ^b ±0.03
b*	20.39 ^b ±1.01	12.51 ^e ±0.01	28.19 ^a ±0.17	11.70 ^f ±0.07	13.75 ^c ±0.08	12.74 ^d ±0.10	10.96 ^g ±0.02
a*	9.56 ^b ±0.17	5.11 ^e ±0.05	11.50 ^a ±0.13	6.06 ^d ±0.04	3.70 ^g ±0.06	7.26 ^c ±0.02	4.73 ^f ±0.12
ΔE	-	11.09 ^a ±0.97	9.17 ^a ±0.79	11.83 ^a ±0.97	10.59 ^a ±0.85	10.74 ^a ±1.04	11.95 ^a ±0.96

^{a-f} Different superscript letters on the same line, indicate significant difference between the samples ($p < 0.05$).

L* represents brightness; a* ranging from red (+a*) to green (-a*) color; b* ranging from yellow (+b*) to blue (-b*) color.

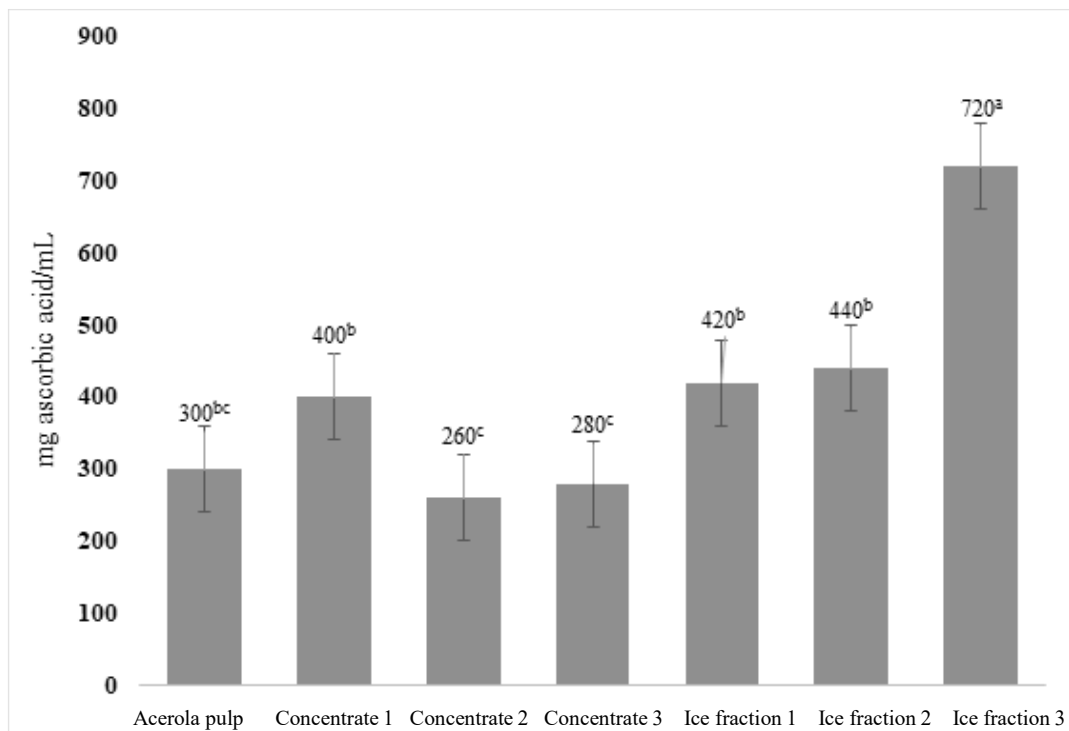
ΔE represents the total color difference between two sample

Geraldi *et al.* (2021) stated that the fruit pulp color, concentrate or not concentrate, is an important parameter, which can affect the food quality and the sensory acceptance by consumers. Despite being different, the samples showed luminosity not markedly different. For the acerola pulp the most important is the red color intensity. Overall the results obtained showed that red color intensity value increased for the concentrate fraction, i.e., it was higher ($p < 0.05$) in the third stage of cryoconcentration process. However, the red color intensity was higher ($p < 0.05$) for acerola pulp when compared to all three concentrates. The red color intensity of acerola pulp is attributed to their anthocyanins pigments. However, the seed propagation of acerola trees has grown fruits which present color variation from yellow to red. Anthocyanins and flavonols are compounds that belong to the flavonoid group and are responsible for the red and yellow color of acerola pulp, respectively. Furthermore, the tendency to color intensity of acerola pulp concentrate fractions could be also attributed to their contents of ascorbic acid (vitamin C), and total polyphenols.

All samples showed a total visible color difference (ΔE^*) compared to the acerola pulp sample. According to Lee and Coastes (2003), as a total color difference above 2.00, is noticeable that differences between acerola pulp and concentrate from first, second and third stages of cryoconcentration process can be seen with the naked eye. However, no differences ($p > 0.05$) were observed between the values of ΔE^* of the concentrates and of the acerola pulp.

Figure 3.3. shown the vitamin C (mg ascorbic acid/mL) of the acerola pulp, concentrate and ice fractions of three stages of cryoconcentration process. The ice fraction from third stage of cryoconcentration had the highest ($p < 0.05$) content of vitamin C. It is worth mentioning that the block cryoconcentration did not contribute to the increase ($p > 0.05$) of vitamin C content. Therefore, vitamin C was greatly affected by the cryoconcentration process, even though this process does not involve heat use. The decreases observed in vitamin C concentrations are probably due to the low stability, high volatilization and because it is a water-soluble vitamin.

Figure 3.3 Results of vitamin C (ascorbic acid) (means) content and standard deviation (I) of acerola pulp, concentrates fractions and ice fractions in three stages of block cryoconcentration process.

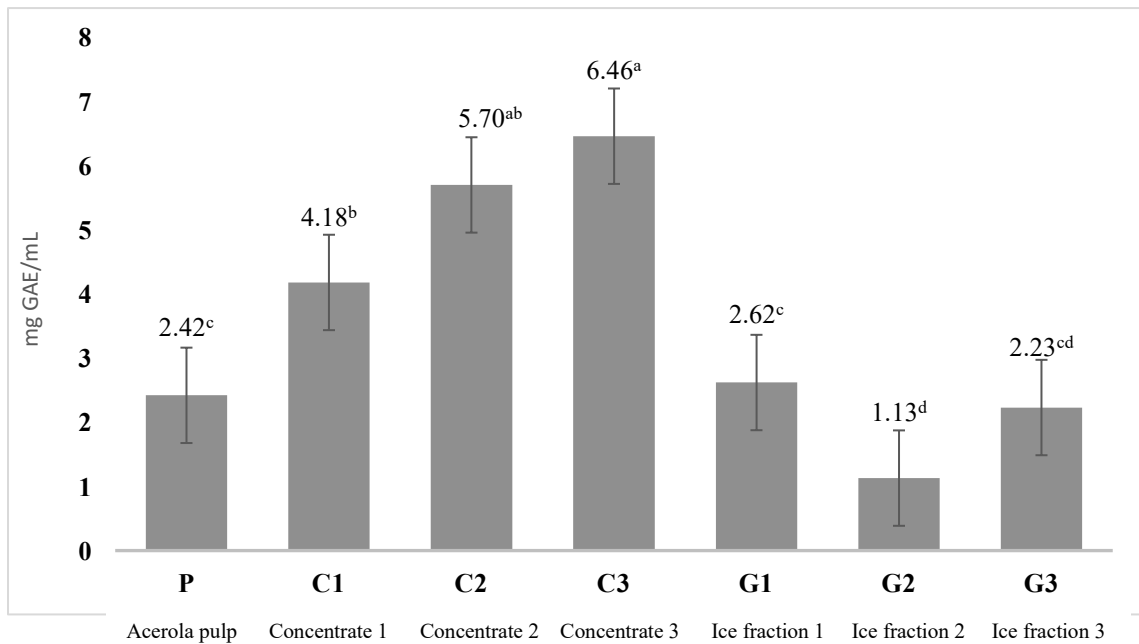


^{a-c} Different superscript letters, in the same line, indicate statistical difference between the samples ($p < 0.05$).

3.3 TOTAL PHENOLIC AND ANTIOXIDANT ACTIVITY

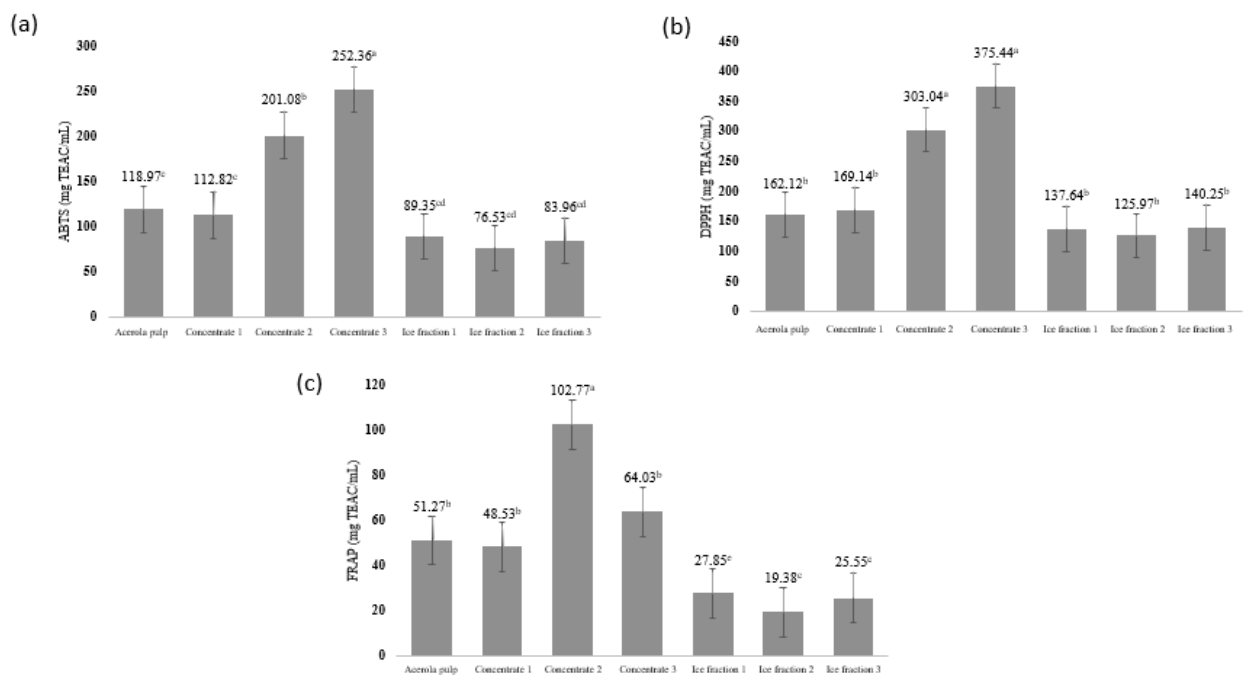
The results for total phenolic and the antioxidant activity of the acerola pulp, concentrates and ice fractions are shown in Figure 3.4 and Figure 3.5 (a, b, c), respectively. Total phenolic content from concentrate 2 and 3 showed the best potential to produce a product with high bioactive compounds content. This result is in agreement with those obtained by Meneses *et al.* (2021) who observed that the block freeze concentration is a useful technique to preserve and increase the content of bioactive compounds of green tea extracts. Adorno *et al.* (2017), Moreno *et al.* (2014) and Orellana-Palma *et al.* (2017) verified an increase in the total phenolic contents in the concentrate from cryoconcentration of strawberry juice, coffee and blueberry juice, respectively.

Figure 3.4 Total phenolic results (mean) and standard deviation (I) of acerola pulp, concentrates and ice fractions in the three stages of block cryoconcentration process



^{a-d} Different superscript letters, in the same line, indicate statistical difference between the samples ($p < 0.05$).

Figure 3.5 Antioxidant activity results (mean) and standard deviation (I) of acerola pulp, concentrates and ice fractions in the three stages of block cryoconcentration process



^{a-d} Different superscript letters indicate statistical difference between the samples ($p < 0.05$).

The results for ABTS and DPPH obtained for acerola pulp, concentrate and ice fractions demonstrated that the concentrate 3; and concentrates 2 and 3 had the highest antioxidant activity ($p < 0.05$), respectively. For the FRAP method was observed an increase of the antioxidant activity in the concentrate 2 when compared with acerola pulp. Through the tests carried out for the antioxidant activity of acerola pulp, concentrates and ices fractions, it was possible to observe that concentrate 2 and/or concentrate 3 presented the highest values. These differences can be credited to the methods used. For example, the FRAP method is an assay based on the ability of an antioxidant to reduce Fe^{3+} to Fe^{2+} . This reaction takes place in the presence of 2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) and under acidic conditions. For this reason, the highest value found to titrable acidity could to contribute for increase of antioxidant activity value of concentrate 2. Angonese *et al.* (2021) related that DPPH can be influenced in an aqueous médium, affecting the reaction involving the electron or hydrogen transfer, and consequently some results. However, in general, in the present study, three stages of cryoconcentration process allow to increase the values of sensitive components, such as some bioactive compounds, which are preserved, and these contribute to a high antioxidant capacity.

3.4 MULTI-ELEMENTAL PROFILE

The multi-elemental profile of acerola pulp, cryoconcentrated acerola pulp and your ice fractions is shown in Table 3.3. Overall, during of acerola pulp block cryoconcentration an increase in Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, S, and Sr contents in concentrates. It is worth mentioning that it was found retention in the ice fractions of Cu element in the first and second stages of acerola pulp cryoconcentration, while for the Sr element the retentation was significant in the first stage. For Zn element was noted a greater retention in all three ice fractions. This result suggest that cryoconcentration was not totally effective in retaining these elements. The element zinc was the most lost ($p < 0.05$) to the ice fractions. In relation to the Zn, similar behavior was found by Haas *et al.* (2022) for orange juice submitted to the block cryoconcentration.

Evaluating all the other elements, it can be verified that the third stage of acerola pulp cryoconcentration was the best for the concentration of the following elements when compared with acerola pulp, in the following decreasing order: Fe (1120%), Mg (637.83%), P (594.74%), Na (472.09%), Mn (303.85%), K (263.14%), Sr (200%), S (193.57%), Ca (163.68%) and Cu

(45.83%). According to Haas et al. (2022) for some minerals, the concentrations were variably higher in specific collected fractions and this could be explained by their solubility in the solution media as both concentrate juice and ice fractions are affected by soluble content and water removal as the solution viscosity changes considerably upon cryoconcentration progression. Selenium element was not quantified in any sample, and its concentrations did not reach the limit of quantification of the method.

The metallic elements Al, Cd, Co, Cr, and Pb, were also evaluated. The content of these metallic elements were below to the detection limits. Jaishankar *et al.* (2014) affirmed that these results are relevant because metallic elements are potentially toxic when ingested even at a low level of exposure, leading to acute symptoms in the kidneys, liver, heart, vascular system, and immune system.

Finally, the multi-elemental profile results show that the acerola pulp block cryoconcentration process can affect these food components and that the intended selection of the process conditions and concentration stages allows obtaining products of better nutritional quality.

Table 3.3 Results (mean \pm standard deviation) for multi-elemental profile of concentrates and ice fractions from three stages of acerola pulp block cryoconcentration.

	Acerola pulp	Concentrate 1	Ice fraction 1	Concentrate 2	Ice fraction 2	Concentrate 3	Ice fraction 3
Ca ($\mu\text{g/L}$)	100.50 ^d \pm 0.50	130 ^c \pm 1	121.50 ^{cd} \pm 45	195.50 ^b \pm 21.50	43.50 ^f \pm 1.50	265 ^a \pm 44	54.50 ^e \pm 0.50
Cu ($\mu\text{g/L}$)	0.24 ^b \pm 0.05	0.15 ^b \pm 0.05	0.39 ^a \pm 0.04	0.20 ^b \pm 0.01	0.05 ^c \pm 0.01	0.35 ^a \pm 0.01	0.03 ^c \pm 0.01
Fe ($\mu\text{g/L}$)	1.25 ^d \pm 0.15	3.90 ^c \pm 0.10	3 ^c \pm 0.30	9.22 ^b \pm 0.42	2.35 ^d \pm 0.25	15.25 ^a \pm 0.75	2.85 ^{cd} \pm 0.15
K ($\mu\text{g/L}$)	1074.50 ^{cd} \pm 248	1678 ^{bc} \pm 393	930.50 ^d \pm 83.50	2459.50 ^b \pm 414.50	555 ^f \pm 56	3902 ^a \pm 755	811.50 ^e \pm 101.50
Mg ($\mu\text{g/L}$)	55.50 ^{cb} \pm 0.50	100.50 ^c \pm 7.50	49.50 ^d \pm 3.50	123 ^b \pm 5	32.50 ^f \pm 2.50	409.50 ^a \pm 33.50	44 ^e \pm 1
Mn ($\mu\text{g/L}$)	0.26 ^d \pm 0.01	0.46 ^c \pm 0.01	0.26 ^d \pm 0.02	0.67 ^b \pm 0.03	0.14 ^e \pm 0.01	1.05 ^a \pm 0.05	0.19 ^c \pm 0.01
Na ($\mu\text{g/L}$)	21.50 ^d \pm 0.50	44.50 ^c \pm 0.50	17.50 ^e \pm 0.50	72 ^b \pm 2	9.80 ^g \pm 0.50	123 ^a \pm 3	15.90 ^f \pm 0.50
P ($\mu\text{g/L}$)	47.50 ^d \pm 0.50	76 ^c \pm 0.01	54 ^d \pm 4	98 ^b \pm 5	23 ^f \pm 2	330 ^a \pm 3	27.50 ^e \pm 0.50
S ($\mu\text{g/L}$)	70 ^c \pm 9	88 ^c \pm 2	84 ^c \pm 5	138 ^b \pm 5	31 ^e \pm 2	207.50 ^a \pm 4.50	42.50 ^d \pm 0.50
Sr ($\mu\text{g/L}$)	0.30 ^{dc} \pm 0.01	0.45 ^{bc} \pm 0.05	0.60 ^b \pm 0.01	0.55 ^c \pm 0.05	0.17 ^d \pm 0.03	0.90 ^a \pm 0.01	0.20 ^d \pm 0.01
Zn ($\mu\text{g/L}$)	0.18 ^d \pm 0.05	48 ^a \pm 2	1.30 ^d \pm 0.10	0.13 ^d \pm 0.05	6.95 ^c \pm 0.75	0.19 ^d \pm 0.01	12.85 ^b \pm 0.40
Se ($\mu\text{g/L}$)	<0.09	<0.09	<0.09	<0.09	<0.09	<0.09	<0.09
Al ($\mu\text{g/L}$)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cd ($\mu\text{g/L}$)	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
Co ($\mu\text{g/L}$)	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Cr ($\mu\text{g/L}$)	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03	<0.03
Pb ($\mu\text{g/L}$)	<0.40	<0.40	<0.40	<0.40	<0.40	<0.40	<0.40

^{a-g} Different superscript letters, on the same line, indicate statistical difference between the samples ($p < 0.05$). ND = not detected.

4 CONCLUSION

The acerola pulp block cryoconcentration realized in three stages demonstrated that third stage had the best results for the concentration factor ($\sim 270\%$) and for the process efficiency ($\sim 78\%$). The root mean square (RSM) values ($\leq 12.35\%$) showed a good performance and yield of acerola pulp block cryoconcentration process, in relation to the total soluble solids content, validating this experiment. It was even observed a progressive increase of total soluble solids contents, being the highest increase in the third stage. The pH values showed a slight differences between the acerola pulp, concentrate and ice fractions. However, the titratable acidity of all three concentrates were much higher than those obtained for the acerola pulp, which was credit to the increase of organic acids. As expected, the moisture content decrease in the concentrate fraction, with increase of their density values. In general, the red color intensity increased for the concentrate fraction, and it was higher in the third stage of cryoconcentration process. All three concentrates showed color differences that are noticeable to the naked eye. In relation to the vitamin C, the acerola pulp block cryoconcentration not contribute to its increase. The highest total phenolics contents were found for concentrates 2 and 3. In relation to the antioxidant activity values, the ABTS method highlighted the concentrate 3 as the best, while the DPPH method indicated the concentrate 3 and the concentrate 2, and the FRAP method the concentrate 2. It can be verified that the third stage of acerola pulp block cryoconcentration was the best for the concentration of the following elements: $\text{Fe} > \text{Mg} > \text{P} > \text{Na} > \text{Mn} > \text{K} > \text{Sr} > \text{S} > \text{Ca} > \text{Cu}$. However, it was not effective to retain Cu, Sr and Zn elements, because they were retained in the ice fractions. As they are associated with health problems, positively metallic elements contents (Al, Cd, Co, Cr, and Pb) were below to the detection limits. Based on in the results obtained, we recommended the use of the third stage of the acerola pulp block cryoconcentration. However, if industries are concerned about energy costs or due to the shorter processing, they can use the concentrate 2. It is also worth mentioning a concern regarding the loss of some nutritional components for the ice fractions, and therefore, in the future these fractions may also be used. Based on the results obtained we conclude that the block cryoconcentration process is an opportunity to improve the nutritional and functional valorization of acerola pulp.

REFERENCES

- ADORNO, W. T. *et al.* Enhancement of phenolic compounds content and antioxidant activity of strawberry (*Fragaria × ananassa*) juice by block freeze concentration technology. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 52, n. 3, p. 781–787, dez. 2016.
- AIDER, M.; DE HALLEUX, D.; AKBACHE, A. Whey cryoconcentration and impact on its composition. **Journal of Food Engineering**, v. 82, n. 1, p. 92–102, set. 2007.
- AIDER, M.; OUNIS, W. B. Skim milk cryoconcentration as affected by the thawing mode: gravitational vs. microwave-assisted. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 1, p. 195–202, nov. 2011.
- ANGONESE, M. *et al.* Organic dragon fruits (*Hylocereus undatus* and *Hylocereus polyrhizus*) grown at the same edaphoclimatic conditions: Comparison of phenolic and organic acids profiles and antioxidant activities. **LWT – Food Science and Technology**, v. 149, 111924, set. 2021.
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIATING ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Method of Analysis**. 18th Edition, Washington DC. 2005.
- AULEDA, J. M. *et al.* Estimation of the freezing point of concentrated fruit juices for application in freeze concentration. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 2, p. 289–294, jul. 2011
- BARROS, E. L. DA S. *et al.* Effect of replacement of milk by block freeze concentrated whey in physicochemical and rheological properties of ice cream. **Food Science and Technology**, v. 42, abr. 2021.
- BELÉN, F. *et al.* One option for the management of wastewater from tofu production: Freeze concentration in a falling-film system. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 3, p. 364–373, jun. 2012.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–76, jul. 1996.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, jan. 1995.
- CANELLA, M. H. M. *et al.* Performance of Skim Goat Milk Mineral Content Subjected to the Block Freeze Concentration Process. **Asian Journal of Advances in Agricultural Research**, v. 9, p. 1–9, may. 2019.
- FERREIRA, I.C. *et al.* Brazilian varieties of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) produced under tropical semi-arid conditions: Bioactive phenolic compounds, sugars, organic acids, and antioxidant capacity. **Journal of Food Biochemistry**, v. 45, n. 8, jun. 2021.

- CASAS-FORERO, N.; ORELLANA-PALMA, P.; PETZOLD, G. Influence of block freeze concentration and evaporation on physicochemical properties, bioactive compounds and antioxidant activity in blueberry juice. **Food Science and Technology**, v. 40, p. 387-394, may. 2020.
- CINDRIĆ, I. J. *et al.* Sample Preparation Methods for the Determination of the Antioxidative Capacity of Apple Juices. **Croatica Chemica Acta**, v. 84, n. 3, p. 435–438, 2011.
- FREITAS, C.A.S. *et al.* Acerola: produção, composição, aspectos nutricionais e produtos. **Revista Brasileira Agrocência**, v. 12, n. 4, p. 395-400, out/dez. 2006.
- GERALDI, M. V. *et al.* Influence of high isostatic pressure and thermal pasteurization on chemical composition, color, antioxidant properties and sensory evaluation of jaboticaba juice. **LWT- Food Science and Technology**, v. 139, p. 110548, mar. 2021.
- HAAS, I. C. DA S. *et al.* Gravitational assisted three-stage block freeze concentration process for producing enriched concentrated orange juice (*Citrus sinensis* L.): Multi-elemental profiling and polyphenolic bioactives. **Journal of Food Engineering**, v. 315, p. 110802, 1 feb. 2022.
- HERNÁNDEZ, E. *et al.* Concentration of apple and pear juices in a multi-plate freeze concentrator. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 10, n. 3, p. 348–355, jul. 2009.
- HIMMETAGAOGLU, A. B.; ERBAY, Z. Effects of spray drying process conditions on the quality properties of microencapsulated cream powder. **International Dairy Journal**, v. 88, p. 60–70, jan. 2019.
- IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4ª ed, 2008. 1020 p.
- IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo agropecuário**. Características gerais das produções agropecuária e extrativista, segundo a cor ou raça do produtor e recortes territoriais específicos. 2017. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/3101/agro_2017_caracteristicas_gerais.pdf. Acesso em: 20 Out. 2022
- JAISHANKAR, M. *et al.* Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 7, n. 2, p. 60–72, jun. 2014.
- LEE, H. S.; COATES, G. A. Effect of thermal pasteurization on Valencia orange juice color and pigments. **LWT - Food Science and Technology**, v. 36, n. 1, p. 153–156, feb. 2003.
- MENESES, D. L. *et al.* Multi-stage block freeze-concentration of green tea (*Camellia sinensis*) extract. **Journal of Food Engineering**, v. 293, 110381, mar. 2021.
- MEZADRI, T. *et al.* El fruto de la acerola: composición y posibles usos alimenticios. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 56, n. 2, p. 101–109, jun. 2006.

- MORENO, F. L. *et al.* Block freeze-concentration of coffee extract: Effect of freezing and thawing stages on solute recovery and bioactive compounds. **Journal of Food Engineering**, v. 120, p. 158–166, jan. 2014.
- ORELLANA-PALMA, P. *et al.* Impact of block cryoconcentration on polyphenol retention in blueberry juice. **Food Bioscience**, v. 20, p. 149–158, dec. 2017.
- OZKAN, G. *et al.* A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. **Food Chemistry**, v. 272, p. 494–506, jan. 2019.
- PRAKASH, A.; BASKARAN, R. Acerola, an untapped functional superfruit: a review on latest frontiers. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 9, p. 3373–3384, sep. 2018.
- QIN, F. G. F. *et al.* Freeze concentration of apple juice followed by centrifugation of ice packed bed. **Journal of Food Engineering**, v. 291, p. 110270, feb. 2021.
- RAVENTÓS, M. *et al.* Concentration of aqueous sugar solutions in a multi-plate cryoconcentrator. **Journal of Food Engineering**, v. 79, n. 2, p. 577–585, mar. 2007.
- RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231–1237, may. 1999.
- RITZINGER, R; RITZINGER, C. H. S. P. Acerola. **Informe Agropecuário: Cultivo tropical de fruteiras**, v. 32, n. 264, p. 17-25, 2011. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/915423/1/AcerolaRITZINGERRogerio.pdf>>. Acesso em: 12 jun. 2022.
- SÁNCHEZ, J. *et al.* Review: Freeze Concentration Technology Applied to Dairy Products. **Food Science and Technology International**, v. 17, n. 1, p. 5–13, feb. 2011.
- SANTOS, V.; RODRIGUES, S.; FERNANDES, F. Improvements on the Stability and Vitamin Content of Acerola Juice Obtained by Ultrasonic Processing. **Foods**, v. 7, n. 5, p. 68, may. 2018.
- SARICOBAN, C.; TAHSIN YILMAZ, M. Modelling the Effects of Processing Factors on the Changes in Colour Parameters of Cooked Meatballs Using Response Surface Methodology. **World Applied Sciences Journal**, v. 9, n. 1, p. 14–22, 2010.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.
- ZHANG, J.; RITENOUR, M.A. Sugar composition analysis of commercial citrus juice products. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 129, p. 178-180, 2016.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos pôde-se concluir que o processo de crioconcentração foi realizado com sucesso para a polpa de acerola. Estes resultados indicam que o concentrado do segundo e do terceiro estágio estariam aptos a serem utilizados no desenvolvimento de um novo produto. Desta forma, recomenda-se que este trabalho tenha uma continuidade, como por exemplo, através da incorporação dos concentrados 2 ou 3 em produtos lácteos, como queijo fresco ou leite fermentado. Com o desenvolvimento dos produtos, recomenda-se que estes sejam caracterizados quanto a composição físico-química, reológica e sensorial. Vale ressaltar que esta é somente uma ideia inicial, mas outros produtos poderão ser obtidos e caracterizados no futuro.

APÊNDICE A – Material suplementar do artigo apresentado no Capítulo 2.

Table S1

Operating parameters for mineral analysis (ICP-OES - Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*)

Parameter	Value
Plasma Power	1350
Pump speed (rpm)	50
Auxiliary gas flow (L/min)	1
Flow of nebulizing gas (L/min)	0.40

* Model iCAP 6000 (Thermo Analytica, USA)

Table S2

Emission lines for each element used for the determination of minerals.

Element	Wavelength (nm)
Al	308.2
Ca	422.6
Cd	226.5
Co	228.6
Cu	324.7
Cr	267.7
Fe	238.2
K	769.8
Mg	280.2
Mn	257.6
Na	588.9
P	213.6
Pb	216.9
S	182.0
Se	203.9
Sr	421.5
Zn	213.8