

**TATIANA BEATRÍS TRIBESS**

**ESTUDO DA CINÉTICA DE INATIVAÇÃO TÉRMICA DA  
PECTINESTERASE EM SUCO DE LARANJA NATURAL  
MINIMAMENTE PROCESSADO**

Dissertação apresentada à Escola  
Politécnica da Universidade de São  
Paulo para obtenção do título de  
Mestre em Engenharia

São Paulo

2003

**TATIANA BEATRÍS TRIBESS**

**ESTUDO DA CINÉTICA DE INATIVAÇÃO TÉRMICA DA  
PECTINESTERASE EM SUCO DE LARANJA NATURAL  
MINIMAMENTE PROCESSADO**

Dissertação apresentada à Escola  
Politécnica da Universidade de São  
Paulo para obtenção do título de  
Mestre em Engenharia

Área de Concentração:  
Engenharia Química

Orientadora:  
Profa. Livre-Docente  
Carmen Cecília Tadini

São Paulo

2003

## FICHA CATALOGRÁFICA

Tribess, Tatiana Beatrís

Estudo da cinética de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja natural minimamente pasteurizado. São Paulo, 2003.

117p.

Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Química.

1. Suco de laranja – Pasteurização 2. Enzimas pectinolíticas  
3. Cinética - modelagem

I. Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de Engenharia Química II. t.

Aos meus pais,  
irmão e marido,  
com carinho.

## **AGRADECIMENTOS**

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carmen Cecília Tadini, pela orientação segura e por toda a dedicação, sempre zelando pelo melhor desenvolvimento dos trabalhos e contribuindo para o crescimento profissional de seus orientados.

À FAPESP e ao CNPq pelas bolsas e auxílio concedidos.

Às pesquisadoras Jussara C. de M. Della Torre e Maria Auxiliadora de B. Rodas pela preciosa orientação na análise sensorial.

Ao meu tio Prof. Dr. Arlindo Tribess pelo exemplo profissional, pelo carinho e pela grande contribuição durante todo o período de mestrado.

Ao estagiário Paulo A. da Silva Júnior por contribuir de forma tão significativa na execução da parte experimental deste trabalho.

Aos 23 provadores que colaboraram com a análise sensorial e com paciência e generosidade compareceram aos exaustivos 11 dias de treinamento e análise.

Aos colegas do Departamento de Engenharia Química: Cynthia, Lúcia, Tatiana, Renato, Denise Tavares, Rodrigo, Nathalia, Denise Shigeoka, Fabiana, Gilmar, Paulo Rossi, Gisele, Sandra e Elis pela amizade, pela ajuda recebida e por terem proporcionado um ambiente de trabalho tão agradável

Aos professores José Luis de Paiva e Aldo Tonso pelas contribuições com o trabalho.

Aos funcionários José Ivan e Maria Lúcia pela colaboração com o trabalho.

À Gabriela Badolato por ceder inúmeros artigos utilizados neste trabalho.

À Dr<sup>a</sup>. Beatriz Pamplona e ao Roberto Rehder pela compreensão e grande generosidade que foram fundamentais na conclusão deste trabalho.

Às amigas Kátia, Laura, Áurea, Maurina, Camila, Nádia e Darlene, algumas distantes, mas presentes nos meus pensamentos, pela importância que têm na minha vida.

Ao meu querido Fernando, pelo amor e cumplicidade e à sua família: Talita, Luiz Carlos, Tales, Paulo e Luiz Roberto pela agradável convivência.

E em especial aos meus pais Arnaldo e Iara, meu irmão Bruno, meus avós Hildegard e Arno, Plácida e Genésio (em memória) e meus familiares, que apesar da distância estão sempre presentes na minha vida e me dão força para seguir em frente.

# SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE QUADROS	
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	
LISTA DE SÍMBOLOS	
RESUMO	
ABSTRACT	
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	4
2.1. O mercado de suco de laranja no Brasil .....	4
2.2. As formas de processamento do suco de laranja realizadas no Brasil	7
2.2.1. Suco de laranja concentrado congelado (FCOJ- Frozen Concentrated Orange Juice).....	8
2.2.2. Suco de laranja reconstituído (RECON RTS).....	9
2.2.3. Suco de laranja pasteurizado (NFC- Not From Concentrate) .....	9
2.2.4. Suco de laranja natural fresco .....	10
2.3 As variedades de laranjas utilizadas na fabricação do suco brasileiro	10
2.4 As características da laranja .....	11
2.5 A pectina .....	12
2.6. A pectinesterase .....	14
2.6.1 Importância da inativação da pectinesterase para a indústria de suco de laranja.....	15
2.6.2. As isoformas da pectinesterase .....	17

2.6.3 A inativação térmica da pectinesterase.....	19
2.6.4 A influência do pH na inativação térmica da pectinesterase .....	25
2.6.5 Modelagem da cinética de inativação enzimática.....	26
2.7. Análise sensorial .....	27
2.8. O suco de laranja minimamente processado .....	30
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	34
3.1. Matéria-prima .....	34
3.2. Equipamentos .....	34
3.3. Reagentes .....	36
3.4. Embalagens .....	37
3.5. Descrição do Processo .....	37
3.5.1 Dimensionamento do trocador para utilização com suco de laranja natural .....	38
3.6. Análises .....	38
3.6.1. Análises físico-químicas .....	40
3.6.2. Análise da atividade da enzima pectinesterase .....	41
3.6.3. Análise sensorial .....	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	45
4.1. Características físico-químicas do suco de laranja natural não processado .....	45
4.2. Características físico-químicas do suco de laranja natural pasteurizado .....	50
4.3. Características físico-químicas do suco de laranja natural processado submetido à análise sensorial.....	59
4.4. O efeito do pH e da pasteurização em diferentes temperaturas na inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja.....	62

4.4.1. Cinética de inativação térmica da pectinesterase.....	70
4.4.2. Efeito do pH e da temperatura de pasteurização sobre os parâmetros da cinética de inativação térmica da pectinesterase.....	78
4.5. Resultados da análise sensorial.....	86
4.5.1. Estimativa da vida de prateleira.....	102
5. Conclusões.....	106
6. PROSSEGUIMENTO DO TRABALHO .....	109
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110



## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Total de laranjas processadas e não processadas, em relação ao total de laranja colhidas no Brasil.....	5
Figura 2.2 – Produção de suco pasteurizado no Brasil.....	6
Figura 2.3 – Corte com as principais partes da laranja.....	12
Figura 2.4 – Estrutura da parede celular de plantas .....	13
Figura 2.5 – Fórmulas das pectinas de alto e baixo grau de metoxilação.....	14
Figura 2.6 – Atuação da enzima pectinesterase sobre a molécula de pectina.....	14
Figura 2.7 – Histogramas de freqüência dos valores atribuídos à aceitação do suco, a intensidade de aroma e sabor natural de laranja e a intenção de compra.....	32
Figura 3.1 – Pasteurizador de laboratório marca <i>Armfield</i> , modelo FT43A .....	35
Figura 3.2 – pH-Stat marca <i>Radiometer</i> modelo PHM – 290.....	35
Figura 3.3 – Arranjos das três seções de troca térmica do trocador de calor a placas utilizado no experimento.....	39
Figura 3.4 – Exemplo de extremos - Ausência e presença de partículas na superfície.....	43
Figura 3.5 – Exemplo de extremos - Cor clara e cor escura / ausência e presença de partículas na superfície.....	43
Figura 3.6 – Exemplo de extremos – Sabores (acido, amargo, laranja e fermentado) e Aromas (laranja e fermentado).....	43
Figura 3.7 – Ficha utilizada na análise sensorial aplicada para estimar a vida de prateleira do suco de laranja minimamente processado.....	44

Figura 4.1 – Variação do <i>ratio</i> em função do pH das misturas de suco de laranja não processado.....	49
Figura 4.2 – Variação do <i>ratio</i> em função do pH das misturas de suco de laranja processado.....	58
Figura 4.3 – Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja de pHs 3,6, processado às temperatura de 82,5, 85,0 e 87,5°C .....	71
Figura 4.4 – Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja de pH 3,7, processado às temperaturas de 82,5; 85,0 e 87,5 °C .....	72
Figura 4.5 – Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja com pH 3,8, processado às temperaturas de 82,5; 85,0 e 87,5 °C .....	72
Figura 4.6 – Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja de pH 3,9, processado às temperaturas de 82,5; 85,0 e 87,5 °C .....	73
Figura 4.7 – Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja de pH 4,0, processado às temperaturas de 82,5; 85,0 e 87,5 °C .....	73
Figura 4.8 – Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja de pH 4,1, processado às temperaturas de 82,5; 85,0 e 87,5 °C .....	74
Figura 4.9 – Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja com pHs 3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0; 4,1 processado à 82,5°C .	76
Figura 4.10 - Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja com pHs 3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0; 4,1 processado à 85,0°C.....	77

Figura 4.11 – Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja com pHs 3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0; 4,1 processado à 87,5°C..	77
Figura 4.12 – Variação do parâmetro $a$ com a temperatura de pasteurização .....	80
Figura 4.13 – Variação do parâmetro $a$ com as três temperaturas de processamento.....	81
Figura 4.14– Superfície e resposta e linhas de contorno do parâmetro $a$ de acordo com pH e temperatura de pasteurização empregada no suco de laranja.....	84
Figura 4.15 – Superfície de resposta e linhas de contorno do parâmetro $k_1$ de acordo com o pH e temperatura de pasteurização empregada no suco de laranja.....	84
Figura 4.16 – Variação dos atributos <i>aroma</i> e <i>sabor fermentado</i> no decorrer do período da análise sensorial, no suco com pH 3,6.....	93
Figura 4.17 – Variação dos atributos <i>aroma</i> e <i>sabor laranja</i> no decorrer do período da análise sensorial, no suco com pH 3,6.....	94
Figura 4.18 – Variação dos atributos <i>aroma</i> e <i>sabor fermentado</i> no decorrer do período da análise sensorial, no suco com pH 4,0.....	95
Figura 4.19 – Variação dos atributos <i>aroma</i> e <i>sabor laranja</i> no decorrer do período de análise sensorial, no suco com pH 4,0.....	96
Figura 4.20 – Comparação entre a variação da frequência dos valores atribuídos à característica <i>aroma fermentado</i> para as amostras e o padrão do suco de laranja com pH 3,6 no decorrer dos dias de análise sensorial.....	97
Figura 4.21 – Comparação entre a variação da frequência dos valores atribuídos à característica <i>aroma fermentado</i> para as amostras e o padrão do suco de laranja com pH 4,0 no decorrer dos dias de análise sensorial.....	98

Figura 4.22 – Comparação entre a variação da frequência dos valores atribuídos à característica <i>sabor fermentado</i> para as amostras e o padrão do suco de laranja com pH 3,6 dos dias de análise sensorial.....	99
Figura 4.23 – Comparação entre a variação da frequência dos valores atribuídos à característica <i>sabor fermentado</i> para as amostras e o padrão do suco de laranja com pH 4,0 dos dias de análise sensorial.....	100
Figura 4.24 – Média dos valores atribuídos para o atributo <i>próprio para o consumo</i> no decorrer dos dias de análise do suco com pH 3,6.....	101
Figura 4.25 – Média dos valores atribuídos para o atributo <i>próprio para o consumo</i> no decorrer dos dias de análise do suco com pH 4,0.....	101
Figura 4.26 – Avaliação da vida de prateleira do suco com pH 3.6.....	104
Figura 4.27 – Avaliação da vida de prateleira do suco com pH 4,0.....	104

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Consumo per capita de suco de laranja na Alemanha , Brasil e Estados Unidos .....	7
Tabela 2.2 – Composição da laranja Pêra por 100g de produto .....	12
Tabela 2.3 – Valores de $D_1$ , $D_2$ , $z_1$ e $z_2$ para inativação de 90 % da PE da polpa de laranja Valência .....	18
Tabela 2.4 – Valores de $z$ para algumas frutas cítricas utilizadas na fabricação de suco .....	21
Tabela 2.5 – Termos apropriados para caracterização sensorial do suco de laranja processado segundo ADQ realizada Della Torre (2003)	29
Tabela 4.1 – Valores médios de acidez titulável (% ácido cítrico), <i>ratio</i> , teor sólidos solúveis (% Brix), polpa (% v/v) e sólidos totais (%) da mistura de suco de laranja não processado .....	46
Tabela 4.2 – Análise estatística (ANOVA) das características físico-químicas do suco de laranja não processado nos pHs controlados .....	48
Tabela 4.3 – Valores médios de acidez titulável (% ácido cítrico), <i>ratio</i> , teor sólidos solúveis (% Brix) e polpa (% v/v) da mistura de suco de laranja processado .....	50
Tabela 4.4 – Análise estatística (ANOVA) das características físico-químicas do suco de laranja pasteurizado em relação ao pH das misturas .....	55
Tabela 4.5 – Análise estatística (ANOVA) das características físico-químicas do suco de laranja pasteurizado, nas temperaturas de processamento .....	56
Tabela 4.6 – Análise estatística (ANOVA) das características físico-químicas do suco de laranja pasteurizado, nos tempo de retenção .....	56

Tabela 4.7 - Análise estatística (ANOVA) das características físico-químicas do suco de laranja pasteurizado em relação ao mês de aquisição e processamento das frutas.....	57
Tabela 4.8 – Valores médios de acidez titulável (% ácido cítrico), <i>ratio</i> , teor de sólidos solúveis (% Brix) e polpa (% v/v) do suco de laranja padrão com pH 3,6 no período de análise sensorial .....	59
Tabela 4.9 – Valores médios de acidez titulável (% ácido cítrico), <i>ratio</i> , teor de sólidos solúveis (% Brix) e polpa (% v/v) do suco de laranja amostra com pH 3,6 no período de análise sensorial .....	60
Tabela 4.10 – Valores médios de acidez titulável (% ácido cítrico), <i>ratio</i> , teor de sólidos solúveis (% Brix) e polpa (% v/v) do suco de laranja padrão com pH 4,0 no período de análise sensorial .....	60
Tabela 4.11 – Valores médios de acidez titulável (% ácido cítrico), <i>ratio</i> , teor de sólidos solúveis (% Brix) e polpa (% v/v) do suco de laranja amostra com pH 4,0 no período de análise sensorial .....	61
Tabela 4.12 – Atividade da pectinesterase nas misturas de suco de laranja em função do pH da mistura e das condições de processo .....	62
Tabela 4.13 – Parâmetros do modelo obtidos para o suco com pHs 3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0; e 4,1; pasteurizados a 82,5; 85,0 e 87,5°C .....	75
Tabela 4.14 – Análise estatística (ANOVA) dos parâmetros da cinética de inativação térmica em relação ao pH das misturas .....	79
Tabela 4.15 – Análise estatística (ANOVA) dos parâmetros da cinética de inativação térmica em relação às temperaturas de processamento.	79
Tabela 4.16 – Análise estatística (ANOVA) da média dos valores atribuídos pelos provadores às amostras de suco congelado (padrão) com pH 4,0 às características avaliadas no decorrer dos dias de análise sensorial.	87
Tabela 4.17 – Análise estatística (ANOVA) da média dos valores atribuídos pelos provadores às amostras de suco congelado (padrão) com pH 3,6 às características avaliadas no decorrer dos dias de análise sensorial.	88

Tabela 4.18 – Análise estatística (ANOVA) da média dos valores atribuídos pelos provadores às amostras de suco refrigerado com pH 4,0 às características avaliadas no decorrer dos dias de análise sensorial. 90

Tabela 4.19 – Análise estatística (ANOVA) da média dos valores atribuídos pelos provadores às amostras de suco refrigerado com pH 3,6 às características avaliadas no decorrer dos dias de análise sensorial. 91

## LISTA DE QUADROS

Quadro 2.1 – Comparação entre tipos de preservação de alimentos .....	30
Quadro 3.1 – pH, temperatura de pasteurização e respectivo tempo de retenção e do suco de laranja submetido à análise sensorial para estimar a vida de prateleira .....	40
Quadro 3.2 – Descritores, definições e materiais de referências para suco de laranja .....	42
Quadro 4.1 - Estimativa dos coeficientes do polinômio de segundo grau ajustado para os valores do parâmetro $a$ .....	82
Quadro 4.2 - Estimativa dos coeficientes do polinômio de segundo grau ajustado para os valores do parâmetro $k_1$ .....	83
Quadro 4.3 – Análise de regressão aplicada aos valores médios do atributo <i>sabor fermentado</i> no suco com pH 3,6 .....	102
Quadro 4.4 – Análise de regressão aplicada aos valores médios do atributo <i>sabor fermentado</i> no suco com pH 4,0 .....	103



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABECITRUS	– Associação Brasileira dos Exportadores de Cítricos
ADQ	– Análise Descritiva Qualitativa
ANOVA	– Analysis of Variance
AOAC	– Association of Official Analytical Chemists
CEAGESP	– Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo
DM	– Degree of Metoxilation
DMS	– Diferença Mínima Significativa
FAO	– Food and Agriculture Organization of the United Nations
FCOJ	– Frozen Concentrated Orange Juice
HM	– High Degree of Metoxilation
HTST	– High Temperature Short Time
IEA	– Instituto de Economia Agrícola
IPPA	– International Pectin Producers Association
LM	– Low Degree of Metoxilation
MTS	– Manotermosonificação
n.p.	– Amostra não processada
NFC	– Not from Concentrated Orange Juice
PE	– Pectinesterase
PEAD	– Polietileno de Alta Densidade
RECON RTS	– Suco de Laranja Reconstituído
TL-PE	– Pectinesterase Termolábeis
TS-PE	– Pectinesterase Termoestável

UHT – Ultra High Temperature

USDA – United States Department of Agriculture

## LISTA DE SÍMBOLOS

- $a$  – Fração molar da isoenzima menos resistente, adimensional
- $1-a$  – Fração da isoenzima mais resistente, adimensional
- $A$  – Atividade enzimática, PEU/g ou mL
- $A_0$  – Atividade enzimática no tempo zero, PEU<sub>0</sub>/g ou mL
- $D$  – Tempo de redução decimal, s
- $k$  – Constante de velocidade, s<sup>-1</sup>
- $k_1$  – Constante de velocidade da isoenzima menos resistente, s<sup>-1</sup>
- $k_2$  – Constante de velocidade da isoenzima mais resistente, s<sup>-1</sup>
- PEU – Unidade de Atividade da Pectinesterase
- PEU<sub>0</sub> – Unidade de Atividade da Pectinesterase no tempo zero
- pH – pH do suco não processado
- $R^2$  – Coeficiente de determinação
- $t$  – Tempo de retenção, s
- $T$  – Temperatura de processo, °C
- $z$  – Coeficiente térmico ou índice de temperatura, °C

## RESUMO

A pasteurização mínima do suco de laranja consiste na utilização de temperatura e tempo mínimos de forma a garantir uma inativação parcial da pectinesterase. Desta forma obtém-se um produto com vida de prateleira superior ao suco d'e laranja fresco e qualidades sensoriais preservadas. O suco de laranja pasteurizado sob tratamento térmico mínimo é uma alternativa de produto para o mercado interno, contribuindo para um melhor aproveitamento da fruta em épocas de safra. O objetivo deste trabalho foi estudar a cinética de inativação térmica da pectinesterase no suco de laranja por meio de processamentos isotérmicos contínuos em três temperaturas de processamento (82,5; 85,0 e 87,5 °C), seis valores de pH controlados (3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0 e 4,1) e no mínimo seis tempos de retenção para cada condição de valores de pH/temperatura de processamento. Os resultados foram ajustados a um modelo matemático da cinética de inativação da PE. Também foram analisadas as características físico-químicas do suco fresco e após o processamento e foi realizada uma estimativa da vida de prateleira a partir da análise sensorial do suco. Os parâmetros físico-químicos do suco de laranja foram influenciados pelo pH do suco, temperatura de processamento, tempos de retenção e safra da fruta. O modelo multicomponente de cinética de primeira ordem utilizado apresentou bom ajuste aos dados obtidos experimentalmente. Em suco de laranja com pH 3,8, pasteurizado nas temperaturas estudadas, foram encontrados os menores valores da constante de velocidade de inativação e fração da isoenzima mais resistente. Maiores níveis de inativação da PE foram obtidos nos sucos com pH 3,6 e 3,7. Dos resultados da estimativa da vida de prateleira, indicaram que o tratamento térmico mínimo do suco de laranja garante um produto sensorialmente satisfatório com vida de prateleira inferior a 34 dias armazenado em garrafas PEAD, sob refrigeração.

## **ABSTRACT**

Minimally processed orange juice consists in using a minimum holding time and temperature to ensure partial inactivation of PE. This will produce an orange juice with a longer shelf-life than fresh orange juice and with preserved sensorial attributes. The objective of this work was to study the thermal inactivation kinetics of PE in orange juice with continuous isothermal processing. Thermal inactivation kinetics was obtained for six pH values (3.6; 3.7; 3.8; 3.9; 4.0 and 4.1), at three temperatures (82.5; 85.0 and 87.5 °C) and at least six holding times for each condition. The results were adjusted by a mathematical model for PE inactivation kinetics. Physicochemical characteristics of the fresh and processed juice were also analyzed and a shelf-life estimate was obtained from sensory analysis of the juice. The physicochemical parameters of orange juice were influenced by juice pH, processing temperature, holding times and fruit crop. The experimental data was well fitted by the first order multicomponent kinetics model used for all the pasteurization pH/temperature conditions studied. A smaller fraction of the more resistant isoenzyme and a slower inactivation velocity constant were found for the juice with a pH of 3.8, at studied temperatures. The highest inactivation levels were obtained with the juices of pHs 3.6 and 3.7. The shelf-life estimation results indicate that the minimal thermal process of orange juice guarantees a sensorially satisfactory product for less than 34 days when stored in HDPE bottles, under refrigeration.

## 1. INTRODUÇÃO

A laranja é um produto de importância para a agricultura e a economia brasileiras. O Brasil é responsável por quase 90% das laranjas produzidas na América do Sul, o que corresponde a 34% da produção mundial desta fruta. É o maior produtor mundial de suco de laranja, produto que está entre os principais itens da pauta de exportação brasileira (FAO, 2002).

O suco de laranja é o oitavo produto em importância nacional e o segundo no estado de São Paulo, onde estão localizadas 11 indústrias processadoras de suco de laranja e 17 mil citricultores. A indústria da laranja emprega 8000 pessoas na indústria e 420 mil pessoas no campo, nos 330 municípios citrícolas presentes no estado de São Paulo (OLIVEIRA, 1999).

A pasteurização de sucos cítricos é necessária para prevenir tanto a deterioração devido à presença de microrganismos quanto à inativação das enzimas presentes naturalmente no suco, principalmente a pectinesterase (PE) (EAGERMAN; ROUSE, 1976). Características físicas desejáveis de um bom suco de laranja processado estão relacionadas à retenção das substâncias suspensas do suco fresco, mantendo este livre da formação de aglomerados gelatinosos. A turbidez natural do suco é preservada por meio da inativação da pectinesterase (ROUSE; ATKINS, 1952).

A qualidade sensorial do suco de laranja é fator determinante na sua aceitação e muitos estudos têm mostrado que as qualidades sensoriais e a composição de aromas mudam com o tratamento térmico e o tempo de estocagem (TONDER et al., 1998).

De acordo com Badolato (2000), o tratamento térmico do suco de laranja a uma temperatura e tempo mínimos leva a um produto de melhor aceitação pelo consumidor se comparado aos sucos pasteurizados existentes no mercado. Os atributos sensoriais do suco de laranja natural minimamente processado apresentam pequena diferença quando comparados com o suco de laranja natural não processado.

Segundo Marshall; Marcy; Braddock (1985), diferentes variedades de suco requerem diferentes temperaturas de processamento, pois a inativação da PE varia

com o pH do suco, sendo mais rápida em sucos com baixos valores de pH e mais lenta em sucos com pH alto. Em Badolato (2000), suco com pH de 3,4 requereu um tratamento mais brando se comparado ao suco com pH 4,0 para se obter um mesmo grau de inativação da pectinesterase.

Collet et al. (2001) ajustaram dados experimentais da inativação enzimática da pectinesterase em pH 3,87 a um modelo matemático de 3 parâmetros considerando que a enzima é constituída de dois componentes. O pH foi citado como influenciador da cinética, sendo sugerida a utilização de modelos matemáticos aplicados distintamente para valores diferentes de pH, na forma de isotermas.

Este trabalho fez parte da linha de pesquisa TRATAMENTO TÉRMICO DE ALIMENTOS LÍQUIDOS do Laboratório de Engenharia de Alimentos do Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo e foi continuação dos estudos do processo de pasteurização de suco de laranja natural e da cinética de inativação da enzima pectinesterase.

O processo de pasteurização do suco de laranja natural vem sendo estudado por um grupo de pesquisadores, coordenados pela Profa. Dra. Carmen C. Tadini, desde 1996. Inicialmente foi estudado o processamento descontínuo do suco de laranja e verificada a interação da liga de alumínio 3004-H39 constituinte da embalagem em lata com o suco (TADINI et al., 1996a). Posteriormente estudos foram realizados comparando a interação desta liga de alumínio com uma solução ácida como solução simulada (TADINI et al., 1996b).

Mathias; Tadini (1998) desenvolveram um programa de cálculo em linguagem Visual Basic que permite dimensionar um arranjo do trocador de calor a placas para atender às diversas condições de processo necessárias. O processamento de pasteurização contínuo do suco de laranja começou a ser estudado por Shigeoka (1999) bem como a viabilidade do armazenamento do produto em latas de alumínio.

Durante o ano de 1999 foi iniciado o estudo da cinética de inativação da enzima pectinesterase e a estabilidade físico-química e microbiológica do suco armazenado refrigerado por até 21 dias em latas de alumínio e em garrafas de polietileno de alta densidade - PEAD (MARQUES; TADINI, 1999; BADOLATO, 2000; TADINI, 2000; COLLET et al., 2001; CONTIN; TADINI, 2001; SUGAI et al., 2002; TRIBESS; ROSSI; TADINI, 2002; DELLA TORRE et al., 2003).

### **1.1. Objetivos**

Como parte fundamental do projeto, a inativação da enzima pectinesterase em sucos de laranja com diferentes pHs submetidos a diferentes tratamentos isotérmicos em vários tempos de retenção foi estudada.

De acordo com o pH, um modelo multicomponente de primeira ordem com três parâmetros foi utilizado para ajustar os dados da medida da atividade residual da pectinesterase presente no suco de laranja minimamente pasteurizado.

Relacionar a influência de diferentes condições do processo de pasteurização contínua e pH do suco sobre as características físico-químicas do produto.

Determinar, por análise sensorial, a vida de prateleira do suco de laranja minimamente processado a partir de duas misturas de sucos com valores de pH diferentes e a inativação térmica da pectinesterase equivalente.



## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. O mercado de suco de laranja no Brasil

O suco de laranja está entre os principais itens da exportação brasileira. A produção de suco de laranja - principalmente o FCOJ (“Frozen Concentrated Orange Juice”, suco de laranja concentrado congelado) é uma das três primeiras atividades agrícolas, em termos de receita bruta, do estado de São Paulo.

Até os anos 60, a Flórida era a única região processadora de laranjas no mundo e os EUA o grande consumidor de suco de laranja. O grande impulso para o desenvolvimento da indústria cítrica no Brasil, que já exportava laranjas para a Europa desde a década de 20, foi a geada que atingiu os pomares da Flórida em 1962. Essa geada acabou se tornando um marco para a indústria de suco de laranja brasileira (LD CITRUS, 2001).

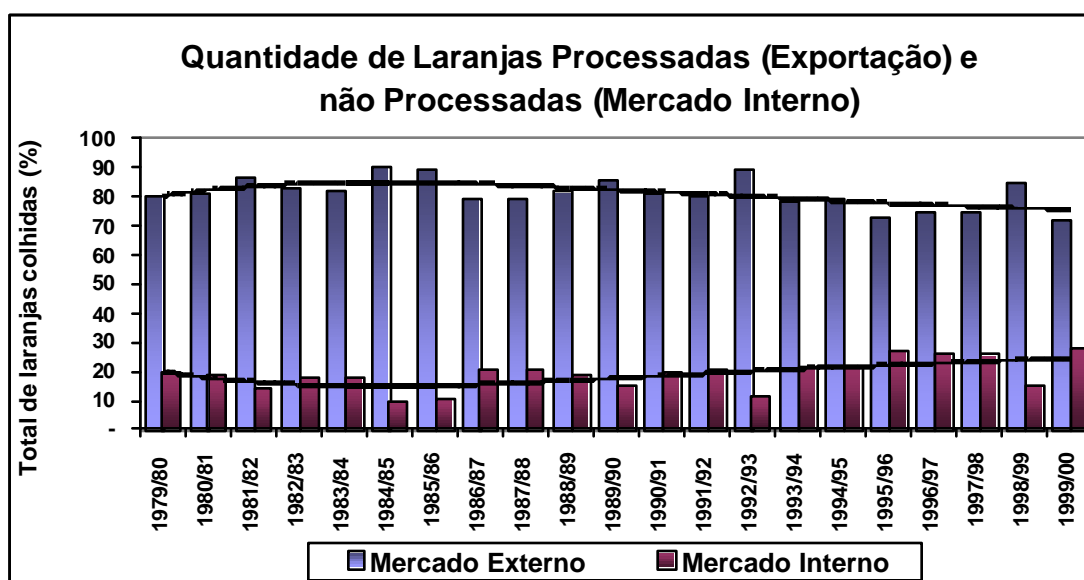
A partir de 1963 o mercado sofreu uma expansão rápida e já na década de 80 o Brasil se tornou o maior produtor mundial de suco de laranja, superando os Estados Unidos. Desde então o Brasil nunca perdeu seu posto de líder mundial na produção de suco de laranja concentrado (ABECITRUS, 2001).

Com a recuperação da indústria produtora de suco de laranja dos Estados Unidos, a partir de 1998 houve uma maior oferta de laranja no pomar brasileiro e após a seca em duas safras agravadas por doenças nos pomares, o lucro do citricultor reduziu e provocou uma debandada para a lavoura de cana-de-açúcar. Em São Paulo a laranja perdeu cerca de 21% (186,65 mil hectares) de sua área plantada nos últimos dez anos. Segundo o agrônomo Joaquim Teófilo Sobrinho, do Instituto Agronômico de Campinas, serão necessários pelo menos cinco anos de bom preço e muito investimento para que a área plantada de laranja volte a crescer no Estado (SILVA, 2001a).

Em conseqüência desse fator, a menor oferta de laranja levou a indústria de suco a pagar mais por uma caixa de laranjas (SILVA, 2001b). Concomitantemente o preço do suco de laranja concentrado congelado vem se desvalorizando devido à forte tendência de consumo de suco de laranja natural por parte do consumidor. Antônio Ambrosio Amaro, pesquisador do Instituto de Economia Agrícola (IEA) -

órgão ligado à Secretaria da Agricultura de São Paulo, diz que a queda na média de preços é explicada pelo aumento dos estoques de suco de laranja concentrado principalmente desde 1997, quando atingiram o pico: “A produção do concentrado vem crescendo desde 1992, com raras exceções, mas a demanda não seguiu o mesmo ritmo, o que pressionou os preços” (PÓLO, 2001).

As variações no mercado, alterações meteorológicas e mudanças políticas, entre outros, influenciam a produção e comercialização do suco de laranja concentrado. Estes fatores estão provocando uma mudança no comportamento da citricultura no Brasil. A Figura 2.1 mostra o comportamento da indústria brasileira de suco, no decorrer dos anos, com um aumento do interesse no mercado interno, em relação à produção de suco concentrado para exportação (ABECITRUS, 2001).



Fonte: ABECITRUS, 2001

Figura 2.1 – Total de laranjas processadas e não processadas, em relação ao total de laranjas colhidas no Brasil.

O mercado interno de suco industrializado está relacionado quase que estritamente ao comércio do suco de laranja natural pasteurizado e do suco de laranja reconstituído, tendo em vista que o FCOJ (suco de laranja concentrado congelado – do inglês: Frozen Concentrated Orange Juice) é rejeitado pelo consumidor brasileiro, que está habituado ao consumo do suco de laranja fresco, com características

sensoriais superiores. O suco pasteurizado disponível nos supermercados continua crescendo em número de marcas (hoje mais de 30) e em volume vendido. A Figura 2.2 mostra a evolução na produção e comercialização do suco de laranja pasteurizado no Brasil e sua tendência crescente. O produto faturou mais de R\$ 500 milhões em 1999, apenas seis anos após o seu lançamento (GARCIA, 2000).



Fonte: Garcia, 2000

Figura 2.2 – Produção de suco pasteurizado no Brasil.

O Brasil pouco contribui com o total de suco pasteurizado exportado no mundo, sendo responsável por menos de 0,5% contra 85% de todo o suco concentrado exportado mundialmente. Esta discrepância nas fatias de exportação justifica a potencialidade de aumento do mercado externo de suco pasteurizado.

A Tabela 2.1 apresenta o consumo per capita ano de suco de laranja na Alemanha, no Brasil e nos Estados Unidos.

Tabela 2.1 – Consumo per capita ano de suco de laranja na Alemanha, Brasil e Estados Unidos (FRUCHTSAFT, 2001; ABECITRUS, 2001).

País	Consumo per capita anual de suco de laranja
E.U.A.	22,0 litros
Alemanha	9,5 litros
Brasil	1,2 litros

O Brasil apesar de maior produtor mundial de suco de laranja industrializado apresenta um consumo reduzido. O consumo per capita anual de suco de laranja industrializado no Brasil é muito baixo se comparada aos EUA, maior consumidor mundial de suco de laranja ou à Alemanha, maior consumidora de suco da Europa. (FRUCHTSAFT, 2001; ABECITRUS, 2001). A possibilidade de aumento no consumo de suco de laranja industrializado pelos brasileiros também é visível se considerarmos que o consumo per capita de suco obtido de laranja *in natura* está perto de 20 litros por ano, volume próximo ao consumido nos EUA.

## 2.2. As formas de processamento do suco de laranja realizadas no Brasil

No Brasil são produzidos alguns tipos de suco quase estritamente para o mercado externo e outros para o mercado interno. O suco de laranja concentrado congelado utiliza 72% da produção nacional de laranjas e é quase totalmente voltado para a exportação (ABECITRUS, 2001). Uma pequena parte da sua produção é utilizada no Brasil no processamento do suco de laranja reconstituído. Além disso, também são produzidos para consumo no país o suco de laranja natural pasteurizado e o suco de laranja fresco.

As etapas iniciais de todas as formas de processamento são as mesmas. As laranjas são colhidas manualmente, quando estão maduras o suficiente (relação satisfatória entre o teor de açúcares e sua acidez), e são transportadas em caminhões até a indústria. Quando o caminhão chega à indústria são retiradas amostras que são levadas ao laboratório onde são analisados determinados parâmetros de qualidade, como pH, teor de sólidos solúveis (expressos em °Brix), acidez, entre outros, que irão influenciar no planejamento da produção e no controle de qualidade.

As frutas são então descarregadas pelo caminhão e vão para silos, onde são agrupadas de acordo com a semelhança entre suas características e aguardam até serem processadas. Quando retiradas dos silos, as frutas são lavadas com água quente clorada, para a sanitização das cascas, e são selecionadas manualmente, quando as frutas impróprias para o processo são removidas. Segundo Hatcher et al. (1992), a lavagem das frutas pode reduzir em até 90% o número de microrganismos presentes. O suco é extraído em máquinas extratoras, onde são separados, em uma única etapa, o suco, a casca e o bagaço (LD CITRUS, 2001).

### 2.2.1. Suco de laranja concentrado congelado (FCOJ- Frozen Concentrated Orange Juice - Ld Citrus, 2001)

O suco extraído contém polpa e grandes fragmentos que devem ser removidos antes da concentração, utilizando-se uma peneira, na etapa chamada *finishing*. Pequenos fragmentos de casca, semente e de polpa remanescentes são removidos por meio de centrifugação. Na centrifugação os percentuais de polpa podem ser ajustados conforme o grau desejado.

O suco é pasteurizado a 95°C durante 20 segundos e é aplicado vácuo com o intuito de provocar a evaporação da água sem a necessidade de expor o suco a altas temperaturas. Após a concentração, a temperatura do suco é rapidamente abaixada e ele é mantido em tanques de refrigeração e homogeneização. Nesta etapa são adicionados aromas ao suco. Em seguida o suco é bombeado através de trocadores de calor que resfriam o suco até a temperatura de 10 °C negativos, temperatura na qual ele será armazenado.

Os sub-produtos do processo de extração da laranja que não são utilizados na fabricação do concentrado são: a polpa de laranja congelada, adicionada ao suco reconstituído para se obter maior teor de fibras; suco extraído de polpa (*pulp wash*), que tem ótimas propriedades estabilizantes e é utilizado na indústria de bebidas e óleos essenciais de laranja, entre outros.

### 2.2.2. Suco de laranja reconstituído (RECON RTS)

É obtido a partir da adição de água potável ao suco concentrado congelado de forma a reduzir o teor de sólidos solúveis de 65°Brix para aproximadamente 11°Brix. Ainda são adicionados à mistura aromas, essências de laranja ou frutas cítricas. A mistura é pasteurizada e embalada em embalagens cartonadas, garrafas de vidro ou PEAD. O suco de laranja reconstituído é produzido e vendido também no Brasil (MORRIS, 1996).

### 2.2.3. Suco de laranja pasteurizado (NFC- Not From Concentrate – Ld Citrus, 2001).

O suco de laranja pasteurizado sofre tratamento térmico após a extração e centrifugação. Atualmente esta pasteurização é feita de duas formas. Uma delas é chamada de esterilização comercial e é realizada por meio do processo UHT (do inglês Ultra High Temperature) em trocador de calor a placas. No processo UHT é usado um conceito que consiste no aquecimento do produto a altas temperaturas, de até 150 °C, por um tempo muito curto, inativando assim os microrganismos indesejados e no caso do suco de laranja também a pectinesterase. Então ele é resfriado até 20°C e envasado em embalagens cartonadas. Pode ser distribuído e comercializado a temperatura ambiente e tem um longo prazo de validade. O suco processado desta forma é pouco comercializado e tem pouca aceitação no mercado, tendo em vista que o seu tratamento térmico muito rigoroso altera fortemente suas características sensoriais.

A outra forma de pasteurização, utilizada mais largamente pelas indústrias, é através do processo HTST (do inglês High Temperature Short Time), realizada a uma temperatura de 95 °C durante 20 segundos. Então ele é resfriado e envasado, usualmente em embalagens cartonadas, garrafas de vidro ou PEAD. Deve ser mantido em temperatura de refrigeração durante sua distribuição e comercialização. O seu tempo de prateleira é de 35 dias, em média.

#### 2.2.4. Suco de laranja natural fresco

O suco de laranja fresco não sofre nenhum tratamento térmico. Após a extração ele é envasado, usualmente em garrafas PEAD. É mantido refrigerado e deve ser rapidamente distribuído e comercializado. Como não sofre tratamento térmico, é um suco com tempo de prateleira curto, cerca de dois dias.

O suco de laranja fresco vem sendo bem aceito no mercado. Porém como sua vida de prateleira é de um ou dois dias quando estocado de 8 a 10 °C, o seu potencial de comercialização fica bem limitado. Além disso, estudos mostram que grande parte do suco de laranja natural comercializado no Brasil está em desacordo com os padrões de contaminação microbiológica estabelecidos pela legislação vigente no país (SHOMER; COGAN; MANNHEIM, 1994).

### 2.3. As variedades de laranjas utilizadas na fabricação do suco brasileiro

Donadio (1999) pesquisou as características de dezenas de variedades de laranja, algumas utilizadas atualmente na produção de suco de laranja e outras que podem ampliar o leque de escolha dos citricultores. Segundo ele, uma boa laranja para a produção de suco industrial precisa ter atributos de qualidade bem definidos, como cor, equilíbrio entre açúcares e ácidos, rentabilidade e produtividade. Os fabricantes fazem misturas (*blends*) de variedades diferentes de laranja, para tentar obter o máximo de uniformidade no produto final.

A razão entre açúcares e ácidos do suco é denominada *ratio*. Os produtores acompanham constantemente o índice de maturação do fruto até que ele atinja *oratio* desejado. No início do período de safra o processo pode começar com uma faixa entre 12 e 13. Mas a faixa preferida pelas indústrias fica entre 15 e 18 (DONADIO, 1999).

A maior parte da produção de suco de laranja de São Paulo depende principalmente de quatro variedades de laranja: a Pêra, a Valência, a Natal e a Hamlin, sendo que a Pêra representa mais de 38 % do total de variedades utilizadas no estado de São Paulo.

A laranja Pêra (*Citrus aurantium L.*) é considerada a variedade de melhor qualidade para produção de suco de laranja, possuindo *score* da cor do seu suco variando de 37,30 a 36,94 (DONADIO, 1999). O *score* é uma padronização estabelecida pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), utilizada para a avaliação da cor do suco de laranja e varia de 16 a 40, dependendo da variedade utilizada na fabricação do suco e da concentração de sólidos solúveis (KIMBALL, 1991).

Segundo Negri (1999) a laranja Pêra é uma variedade de porte médio, com peso em torno de 145g, casca alaranjada de espessura fina ou média. A polpa é de cor laranja vivo, possui teor de sólidos solúveis médio de 11,8°Brix, pH em torno de 3,8 e acidez média de 0,95% de ácido cítrico. De acordo com Donadio (1999) o *ratio* da laranja Pêra varia de 12,94 a 20,75.

A laranja Lima (*Citrus aurantifolia*) é uma variedade de baixa acidez e menor teor de sólidos solúveis, que pode ser utilizada pela indústria processadora de suco de laranja para diminuir a acidez do suco produzido, quando a mistura de laranjas disponível leva a um suco muito ácido. A laranja Lima tem um pH alto, em torno de 5,3 e acidez de 0,12% de ácido cítrico. Seu porte varia de médio a grande, com peso médio de 120g. Possui casca alaranjado-claro com espessura média ou grossa, polpa alaranjado-claro e teor de sólidos solúveis médio de 10,3°Brix (NEGRI, 1999).

#### **2.4. As características da laranja**

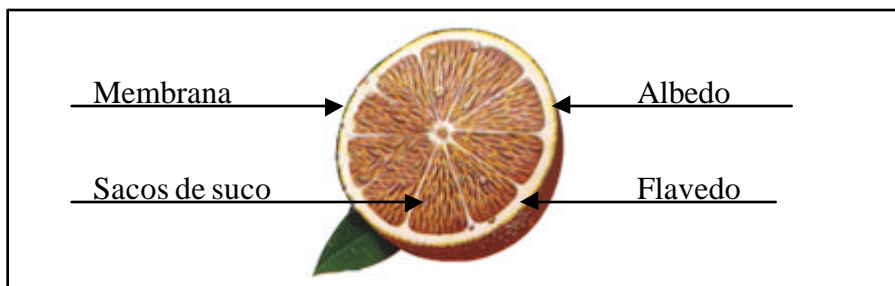
O fruto da laranjeira é fonte de beta-caroteno, folato, tiamina e potássio. A laranja possui um baixo teor calórico, cerca de 60 calorias por 100 gramas de produto. É uma excelente fonte de vitamina C, sendo que uma laranja contém pouco mais da dose diária de ácido ascórbico recomendada a um adulto. A Tabela 2.2 apresenta a composição da laranja Pêra por 100g de produto.



Tabela 2.2 - Composição da laranja Pêra por 100g de produto (NETLIGHT, 2002).

Calorias	62 kcal
Carboidratos	15,4 g
Proteínas	1,2 g
Fibras	3,1 g
Gordura	0,2 g
Potássio	237 mg
Vitamina C	69,7 mg

As partes que compõem a laranja são: o flavedo, parte externa e colorida da casca; o albedo, porção interna esbranquiçada e esponjosa da laranja, gomos revestidos por uma membrana e preenchidos por pequenos sacos de suco e sementes. A Figura 2.3 apresenta um corte na laranja com suas partes principais representadas.

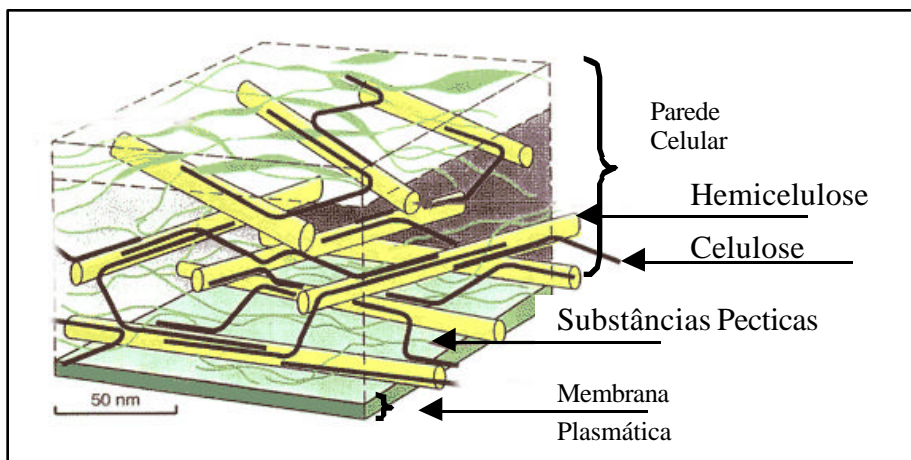


Fonte: ABECITRUS, 2001.

Figura 2.3 – Corte com as principais partes da laranja.

## 2.5. A pectina

A estrutura da parede celular dos vegetais é formada por polissacarídeos, que podem ser divididos de acordo com suas propriedades físico-químicas em: substâncias pécticas, hemicelulose e celulose. Na Figura 2.4 é possível localizar estes três polissacarídeos e visualizar suas diferenças estruturais (IPPA, 2003).



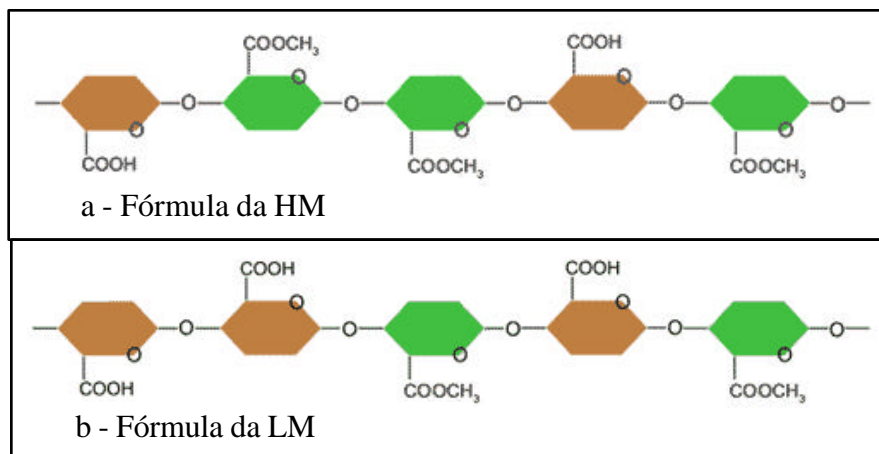
Fonte: IPPA, 2003.

Figura 2.4 – Estrutura da parede celular de plantas

As substâncias pectínicas são a pectina e o ácido pectíco. A pectina é um polímero hidrofílico pertencente ao grupo dos hidrocolóides. Apresenta uma variedade de moléculas de carboidratos, contendo blocos de galacturose parcialmente esterificados com grupos metoxila e blocos com muitas outras moléculas de açúcar, como a arabinogalactose, galactose e arabinose além de outros açúcares em pequenas quantidades, em uma estrutura altamente ramificada. O ácido pectíco ou ácido galacturônico é o resultado da desmetoxilação da pectina (IPPA, 2003)

A medida da proporção de grupos carboxílicos que estão na forma esterificada em relação ao total de grupos carboxílicos presentes na estrutura é chamada de grau de metoxilação (DM – do inglês: Degree of Methoxilation). Por exemplo um DM de 0,6 indica 60% de esterificação. As pectinas consideradas com alto grau de metoxilação (HM) tem DM maior do que 0,43. As pectinas presentes nas frutas apresentam, normalmente, mais de 50% das suas unidades de carboidratos esterificadas, e portanto, fazem parte do grupo das pectinas com alto grau de metoxilação (SCHILLIND; LEONHARDT, 2003; CHAPLIN, 2003).

A Figura 2.5 apresenta as fórmulas das pectinas com alto grau de metoxilação e com baixo grau de metoxilação (LM). Pode-se observar que os grupos na cor verde são os carboidratos esterificados e se encontram em maior proporção na HM.



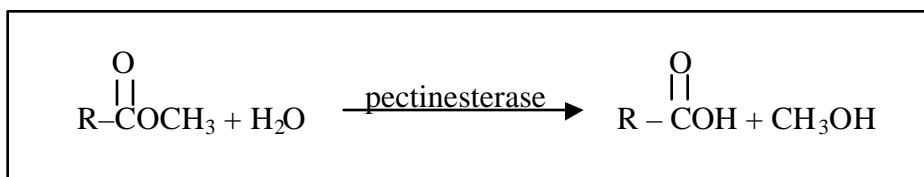
Fonte: Chaplin, 2003.

Figura 2.5 – Fórmulas das pectinas de alto e baixo grau de metoxilação.

A pectina é classificada como um agente suspensor e funciona como um emulsificante, ajudando a manter a suspensão do suco e desta forma proporcionando a manutenção da sua turbidez (BABYLON, 1998).

## 2.6. A pectinesterase

A pectinesterase é uma enzima altamente específica e age unicamente em metil ésteres. No caso das frutas cítricas age sobre a pectina. O mecanismo catalítico se dá na presença de água, por isso a PE é considerada uma enzima hidrolítica. Na reação, acontece a quebra da molécula de água e a adição de um hidrogênio a um carbono da ligação e o grupo hidroxila para o outro carbono (BABYLON, 1998). A Figura 2.6 ilustra uma molécula de pectina sofrendo a ação da enzima pectinesterase (KIMBALL, 1991).



Fonte: Kimball, 1991.

Figura 2.6: Atuação da enzima pectinesterase sobre a molécula de pectina

A enzima pectinesterase (PE) é encontrada em todas as plantas. A quantidade de pectinesterase pode ser muito alta se comparada à quantidade de pectina disponível. No caso das frutas cítricas, por exemplo, existe pectinesterase suficiente para desesterificar a quantidade de pectina existente em apenas 10 minutos no pH ótimo ( $7,0 \leq \text{pH} \leq 7,5$ ) ou em menos de 4 horas no pH do suco (VERSTEEG et al., 1980; CORRÊA NETO; FARIA, 1999).

Rouse (1953) estudou a atividade da pectinesterase e a quantidade de pectina, expressa como pectato de cálcio em seis partes componentes de seis variedades maduras de frutas cítricas. As frutas analisadas foram: tangerina Dancy, pomelo Marsh e laranjas Hamlin, Pinapple, Temple e Valência, com teor de sólidos solúveis variando entre 9,4 e 13,8°Brix. As partes, cuidadosamente separadas, e analisadas foram o flavedo e o albedo (componentes da casca), as sementes, a membrana externa aos gomos, os sacos de suco (somente a membrana que comporta em seu interior o suco) e o suco centrifugado.

Sem exceção, as maiores atividades de pectinesterase foram encontradas nos sacos de suco. Os demais componentes da laranja que apresentaram atividade da PE, em ordem decrescente, são: membranas, flavedo, albedo, sementes e suco centrifugado. O total de pectina foi encontrado com a seguinte distribuição: a maior quantidade no albedo seguido da membrana, flavedo, sementes, sacos de suco e o suco centrifugado. A polpa do suco de laranja consiste principalmente de sacos de suco e membranas, portanto é onde ocorre a maior atividade de pectinesterase.

Uma unidade de pectinesterase (PEU) é definida como a quantidade de pectinesterase necessária para liberar  $\mu\text{mol}$  do grupo carboxil em um minuto (VERCET; LOPEZ; BURGOS, 1999).

### *2.6.1. Importância da inativação da pectinesterase para a indústria de suco de laranja.*

A turbidez natural que os sucos cítricos apresentam influencia a aceitação do produto pelos consumidores. Essa turbidez é uma mistura de partículas em suspensão contendo lipídios, proteínas, pectina, celulose e hemicelulose, que resultam da ruptura das células da laranja durante a extração. A pectina é normalmente referida

como o componente que naturalmente estabiliza a turbidez dos sucos cítricos, pois agindo como emulsificante, ajuda a manter a suspensão proporcionando a turbidez (CORRÊA NETO; FARIA, 1999).

Os fragmentos macroscópicos contendo também a pectina são considerados polpa. Essa polpa e aturbidez estão correlacionadas e contribuem para a viscosidade do suco de laranja. A quebra nas partículas da polpa ou uma desestabilização da turbidez provocam uma redução na viscosidade do suco, como é relatado por vários autores (VERSTEEG et al., 1980; KIMBALL, 1991, CORRÊA NETO; FARIA, 1999).

No suco fresco ou subpasteurizado a PE desesterifica a pectina, produzindo metanol e pectina com baixa metoxilação. Subseqüentemente ocorre a precipitação da pectina de baixa metoxilação por íons de cálcio o que resulta na perda de turbidez, um problema que afeta seriamente a qualidade do suco, pois compromete a sua aparência e reduz o sabor e aroma naturais do suco de laranja, aumentando a sensibilidade à oxidação (VERSTEEG et al., 1980).

Segundo Versteeg et al. (1980) a pectinesterase do suco de laranja é mais termicamente resistente do que os microrganismos deterioradores existentes e do que a peroxidase que é responsável por alterações no sabor e aroma. Portanto, a sua inativação é utilizada como parâmetro para se definir o tempo e a temperatura do processamento térmico ao qual o suco de laranja deve ser submetido (MURDOCK et al., 1952; apud BADOLATO, 2000).

Holland; Reeder; Pritcher (1976) realizaram testes acelerados de estabilidade da turbidez natural de sucos de laranja pasteurizados, como teste de vida de prateleira, no qual as condições em que foram realizados, durante 24 horas, fossem equivalentes a uma estimativa do que acontece com o produto durante um ano em condições normais de armazenamento.

A floculação decorrente da ação enzimática foi acelerada através da adição de uma pectina especial e de sal de bário, com pH controlado (entre 3,15 e 3,20) e temperatura de 49°C. O suco era mantido nestas condições por 24 horas, sendo posteriormente centrifugado e tendo seu sobrenadante espectrofotometricamente analisado no comprimento de onda de 660nm, utilizando-se água destilada como branco.

Foi estabelecido que o suco que mantivesse mais de 60% da nuvem de sólidos suspensos inicial após 24 horas de teste seria considerado como satisfatoriamente estável em relação à retenção da nuvem durante um período de no mínimo um ano, em condições normais de armazenamento.

### 2.6.2. As isoformas da pectinesterase

É conhecida a existência de isoformas de pectinesterase em suco de laranja, porém as informações sobre o número e a termoresistência destas isoformas são variadas. Autores como Versteeg et al. (1980) e Wicker; Tenelli (1988) apontam a existência de duas isoformas com resistências térmicas diferentes. Porém outros autores, principalmente em trabalhos mais recentes, citam a existência de três, quatro e até sete isoformas, com pesos moleculares, resistência térmica e atividades diferentes (CAMERON; NIEDZ; GROHMANN, 1994; CAMERON; BAKER; GROHMANN, 1998; HAN; NIELSEN; NELSON, 1998).

Para o estudo da inativação térmica da pectinesterase pode-se considerar a existência de dois grupos de isoformas, chamados de PE1 e PE2 (BABYLON, 1998). O primeiro grupo, PE1, seria a representação das isoformas de resistência térmica intermediária, que muitos autores subdividem em formas distintas, como P4 e P5, citadas por Han; Nielsen; Nelson (1998) e correspondem a parte inicial da cinética de inativação térmica da pectinesterase, ou seja, a reta formada inicialmente e com maior valor de coeficiente angular. E o segundo grupo, PE2, contemplaria as isoformas mais termoresistentes (P1, P2 e P3 - segundo Han; Nielsen; Nelson, 1998) correspondendo à parte final da cinética, com menor coeficiente angular. As isoformas de resistência térmica muito baixas não são consideradas nesta representação. O grupo de isoformas mais termoresistentes representam apenas 5% da atividade total de pectinesterase segundo Versteeg et al. (1980) e Cameron; Baker; Grohmann (1998).

Como decorrência da existência destes dois grupos principais de isoformas encontra-se para cada temperatura, dois tempos de redução decimal (D) diferentes. A Tabela 2.3 apresenta os valores de tempo de redução decimal -  $D_1$ ,  $D_2$ , e do números de graus necessários para o decaimento de 1 ciclo logaritmo de D -  $z_1$  e  $z_2$  na

inativação de 90% da pectinesterase em polpa de laranja Valência (WICKER; TENELLI, 1988).

Tabela 2.3 – Valores de  $D_1$ ,  $D_2$ ,  $z_1$  e  $z_2$  para inativação de 90% da PE da polpa de laranja Valência (WICKER; TENELLI, 1988).

Temperatura (°C)	$D_1$ (s)	$D_2$ (s)
60	138	>174
65	42	>174
70	16	>174
80	1,9	>174
85	0,7	173
90	0,3	32
Valores de $z$ (°C)	6,5	11

Cameron; Baker; Grohmann (1998) relacionaram 4 isoformas da pectinesterase, encontradas no albedo e flavedo com os seus efeitos sobre a nuvem de sólidos suspensos do suco de laranja Valência. Neste estudo foi utilizado suco de laranja concentrado congelado reconstituído até 11°Brix e adicionado de 5 PEU/mL isoformas P 1, 2, 3 e 4.

A contribuição de cada isoforma para o total de atividade da PE foi a seguinte: a P1 representou 6,0%; a P2, 63,1%; a P3, 7,9% e finalmente a P4, 22,0%. A 30°C, a perda de turbidez foi rápida, no 3º dia a forma P1 já havia precipitado toda a nuvem e semelhantemente as formas P2 e P3 apresentavam o mesmo efeito, porém de forma menos acelerada. A 4°C, a forma P3 causou a perda de turbidez mais acelerada, seguida pela forma P2. A forma P4 não apresentou nenhum efeito sobre a nuvem de sólidos suspensos a 30°C por 10 dias e a 4°C por 14 dias. O rápido efeito das formas 1 e 3 indicam que estas contribuem mais fortemente na perda de qualidade decorrente das alterações na nuvem de sólidos suspensos do suco de laranja.

Han; Nielsen; Nelson (1998) isolaram formas termoestáveis (TS-PE) e termolábeis (TL-PE) da pectinesterase de laranja de marcas comerciais através de cromatografia (CL\_6B column). As massas moleculares e purezas das formas isoladas foram determinadas por meio de eletroforese (SDS-PAGE) e cromatografia de exclusão de tamanho. A termoestabilidade foi estudada utilizando-se tratamento térmico e eletroforese. Além disso, ainda foram medidos o conteúdo de proteína e a atividade da enzima.

Foi constatada a existência de sete isoformas. Três isoformas chamadas de P1, P2 e P3 com 70kDa, 60kDa e 27kDa, respectivamente, são termoestáveis, sendo que a P2 é a mais estável termicamente (85,5% de inativação a 70°C durante 5 minutos e 93% de inativação a 90°C por 1 min). As duas formas P6 e P7, ambas com 35kDa, são termolábeis, com inativação total a 70°C por 5 minutos ou a 90°C por 1 minuto. As duas formas P4 e P5, com 50kDa e 43kDa respectivamente, apresentaram resistências térmicas intermediárias entre as isoformas termoresistentes e termolábeis. As formas termoresistentes da pectinesterase representaram 50% do total de conteúdo protéico da pectinesterase, mas apenas 1,5% do total de atividade desta enzima.

### 2.6.3. A inativação térmica da pectinesterase

Rouse; Atkins (1952) estudaram a inativação térmica da pectinesterase em suco de pomelo Duncan e Laranja Valência em trocador de calor tubular. A vazão foi ajustada de forma a garantir regime turbulento. O suco permanecia dentro do trocador durante 0,8 segundos e a temperatura era mantida durante o tempo de retenção em tubo submerso em banho de água termostatizado, seguido de imediato resfriamento.

Neste estudo foram analisadas amostras de suco de laranja com 5 e 10% de polpa. O tempo de retenção necessário para se obter uma mesma atividade residual nas duas situações sempre foi menor no suco com 5% de polpa, com uma diferença entre os tempos necessários para se obter esta igualdade de inativação, variando entre 5 e 45 segundos, dependendo da temperatura.



O suco com pH 4,1 foi pasteurizado às temperaturas de 85,0; 88,0; 90,5; 93,5 e 96°C, com tempos de retenção variando entre 0 e 120 segundos. A temperatura de 85°C, a partir do tempo de 5 segundos, já proporcionou uma inativação térmica superior a 90% e, chegou a mais de 97% com o tempo de retenção de 120 segundos. A 88°C a inativação da PE chegou próxima a 100% com o tempo de retenção de 120 segundos.

Foi analisada a influência do pH do suco na inativação da PE por meio do estudo da pasteurização do suco de laranja Valência com 10% de polpa nos pHs 3,2; 3,6 e 4,1, em temperaturas variadas. Foi verificado que a inativação foi maior para valores de pH baixos e menor para valores altos de pH.

Em Rouse; Atkins (1953) a inativação térmica da PE foi estudada em suco de laranja Hamlin e Pinapple para variadas temperaturas e tempos de retenção. A variação de temperatura dos sucos, com pH 3,8 e 10% de polpa, foi de 63 a 99°C, com tempos de retenção variando entre 0 e 180 segundos. Na temperatura de 74°C chegou-se a uma inativação máxima de aproximadamente 95% a partir do tempo de 20 segundos. Já à temperatura de 85°C chegou-se a quase 100% de inativação com o tempo de retenção de 120 segundos.

Eagerman; Rouse (1976) estudaram a inativação da PE em suco de três variedades de laranja, por meio de tratamento térmico descontínuo. Foram utilizadas amostras estéreis de suco de laranja concentrado congelado das variedades Hamlin, Pinapple e Valência. Os sucos concentrados foram ajustados para 12,8°Brix, 12% de polpa e pH 4,1. Nestas amostras foram inoculadas quantidades iguais de PE extraída de sucos destas variedades de laranja e purificadas (30mL com  $5 \times 10^{-1}$  PEU/°Brix).

Neste estudo foram encontrados os valores de z diferentes em algumas frutas cítricas em temperaturas próximas de 90°C, conforme a Tabela 2.4.

Tabela 2.4 – Valores de z para algumas frutas cítricas utilizadas na fabricação de suco (EAGERMAN; ROUSE ,1976).

Variedade	Temperatura (°C)	z (°C)
Laranja Hamlin	87,22	4,83
Laranja Pineapple	87,78	5,05
Laranja Valência	90,00	6,50
Grapefruit Duncan	85,50	5,16

Segundo Versteeg et al. (1980), duas formas da PE são responsáveis por 95% da atividade da PE presente no suco, influenciando a estabilidade térmica e a manutenção da nuvem de sólidos suspensos. Já a forma de maior peso molecular representa 5% da atividade total de PE.

O experimento se deu com o uso de suco de laranja concentrado ajustado a 13°Brix. A PE foi obtida por extração de laranjas Navel e separadas em PE de alto peso molecular (54 kDa), por filtração em Bio Gel P-100. As formas, definidas pelo autor como isoformas 1 e 2 da isoenzima, foram separadas da isoforma de maior peso molecular em cromatógrafo, com posterior purificação. A estabilidade térmica foi determinada através da imersão de tubos com 10 mL de suco com adição de 0,1mL da enzima em banho térmico, em temperaturas entre 60 e 90°C, durante o tempo máximo de 4 minutos. A forma 2 foi rapidamente inativada à temperatura de 60°C, no entanto a inativação da forma 1 só foi observada a partir da temperatura de 70°C. A PE de alto peso molecular requereu uma temperatura superior a 90°C para sua inativação.

Marshall; Marcy; Braddock (1985) analisaram a influência da variação do total de sólidos solúveis na inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja Valência concentrado congelado. O FCOJ a 63°Brix foi reconstituído de forma a se obter um total de sólidos solúveis variando entre 10 e 50°Brix. A cada 15ml de suco eram adicionados 0,1g de PE, de forma a se obter uma atividade inicial de 60 PEU. O tratamento térmico utilizado foi o descontínuo, com o uso de tubos mantidos em banho a 90°C nos tempos de retenção desejados.

A inativação da PE seguiu uma reação de 1ª ordem para a faixa de 10 a 35°Brix e tempo de redução decimal (D) variando em torno de 15 segundos. As amostras com teor de sólidos solúveis maior do que 40°Brix não seguiram uma cinética de primeira ordem. Aparentemente ocorreu um efeito de proteção, pois a taxa de inativação decresceu com o aumento dos sólidos solúveis.

A inativação térmica da PE em polpa de suco foi obtida por Wicker; Tenelli (1988) como sendo uma cinética não-linear. Isto sugere que existam frações de PE com resistências térmicas diferentes, as isoformas. Foram estudadas polpas de laranjas Valência estéreis, com adição de alíquotas de pectinesterase cítrica de marca comercial, idêntica a do suco.

A não-linearidade das curvas indica a existência de no mínimo duas frações de pectinesterase com resistências térmicas diferentes. Valores de D foram obtidos graficamente a partir das regiões lineares dos gráficos, conforme apresentado anteriormente na Tabela 2.3. Para a temperatura de 85°C foram encontrados tempos de redução decimal de 0,65 e 173,58 segundos, para as formas menos e mais termicamente resistentes, respectivamente. Já Versteeg et al. (1979), citados por Wicker; Tenelli (1988), encontraram valores de D de 0,09; 0,02 e 23 segundos, para três isoformas identificadas, PEI, PEII e PEIII, respectivamente.

A pasteurização do suco de laranja utilizando-se energia de microondas foi estudada por Nikdel et al. (1993) em uma unidade de fluxo contínuo. Um microondas doméstico foi modificado com a adição de tubos em teflon dentro dele, onde, com a ajuda de uma bomba na parte externa do equipamento era possível obter um fluxo contínuo de suco. O suco foi submetido a temperaturas entre 75 e 90,5°C, potência nominal de 600W e frequência de 2450 MHz. Foi obtida uma inativação da pectinesterase superior a 98,5% em todas as temperaturas, para tempos superiores a 10 segundos, inativação esta equivalente a uma pasteurização convencional a 90°C durante o mesmo tempo de retenção.

Cameron; Niedz; Grohmann (1994) encontraram seis formas da PE em suco de laranja Valência. Destas isoformas encontradas, as mais resistentes termicamente foram as formas PME3a e PME3b, que mantiveram 26,6 e 70,9% de atividade a 70°C, respectivamente. As demais isoformas não apresentaram atividades residuais superiores a 10% a 70°C. As isoformas mais resistentes representam apenas 5 % da

atividade total de PE encontrada. Os pesos moleculares das enzimas mais resistentes foram de 21,2 e 37,5 kDa (PMEa e PME3b, respectivamente) e variaram de 19,8 até 49,4 kDa para as formas menos resistentes.

No estudo realizado por Snir et al. (1996) foi constatado que a termoestabilidade da PE não varia significativamente entre os diferentes tipos de suco de frutas cítricas analisadas, entre elas, amostras de grapefruit, tangerinas e diversos tipos de laranjas. As laranjas analisadas incluíam as variedades Hamlin, Navel, Pinapple, Temple e Valência.

Os tratamentos térmicos foram realizados de forma descontínua em tubos de 3mL imersos em banhos térmicos. A PE termoestável foi definida como a enzima presente após 5 minutos de tratamento térmico a 70°C. O comportamento das curvas de inativação térmica da PE foi similar para a maior parte dos sucos testados. As quantidades de PE encontradas inicialmente e a PE termoestável mantiveram valores próximos com variação não significativa, sendo que a quantidade de PE termoestável variou em torno de 10% da atividade total da PE.

Com o objetivo de prevenir a perda da turbidez natural do suco em detrimento à manutenção do *flavor*, Goodner; Braddock; Parish (1998) utilizaram tratamentos com altas pressões e baixas temperaturas (<50°C). O suco submetido a pressão de 700MPa por 1 minuto foi muito efetivo na prevenção da perda da turbidez natural do suco de laranja por um período maior do que 50 dias, assim como na inativação da PE. A inativação da PE é citada como maior influenciador da manutenção da turbidez. Foi realizada análise sensorial, onde não foi encontrada diferenças significativas entre o suco tratado a 800MPa, por 1 minuto e o suco controle, que não sofreu tratamento.

Vercet; Lopez; Burgos (1999) estudaram a inativação da forma mais termicamente resistente da PE do suco de laranja Navel e suco de laranja de uma marca comercial por meio de manotermosonificação (MTS). Esta forma de tratamento consiste na aplicação simultânea de calor e ondas de ultrassom à pressões moderadas (200 kPa) e temperatura de 72°C. O tratamento térmico utilizado como comparativo ao método MTS, se deu de forma descontínua com a introdução de tubos com 5mL de suco em banho térmico nas temperaturas trabalhadas (entre 72 e 82°C).

O produto tratado por MTS sofreu um aumento de mais de 400 vezes na inativação enzimática da forma mais termoresistente da pectinaesterase, se comparado com o suco que sofreu somente o aquecimento à mesma temperatura. A inativação por MTS foi de 99%, em pouco mais de 1 minuto de exposição. Mesmo nas temperaturas mais baixas, como 33°C, o processo MTS promoveu maior inativação do que o tratamento térmico simples a 72°C.

Sucos de laranja tratados com pulsos elétricos de alta intensidade (PEF – do inglês – Pulse Electric Fields), com intensidades de 20, 25, 30, e 35kV/cm durante tempos de 39, 49 e 59 $\mu$ s, tiveram a sua inativação de pectinesterase medida. Os tratamentos com pulsos elétricos de mais altas intensidades por tempos maiores foram mais efetivos na inativação da PE, que foi de 90% no tratamento a 35kV/cm, durante 59 $\mu$ s. O suco que sofreu este tratamento não apresentou crescimento microbiano nem aumento da atividade da PE mantido a 37°C, durante 112 dias (YEOM et al., 2000a; YEOM; ZHANG; CHISM, 2002).

Em outro estudo Yeom et al. (2000b) comparou o efeito do tratamento com pulsos elétricos com intensidade de 35kV/cm durante 59 $\mu$ s e uma pasteurização convencional a 94,6°C por 30s. Foi observado que o suco tratado com PEF manteve conservada uma maior quantidade de vitamina C e 5 componentes representativos do aroma, além de menor escurecimento não-enzimático, comparando-se com o suco pasteurizado.

Van den Broeck et al. (2000) investigaram separadamente os grupos de isoformas de PE mais e menos termicamente estáveis, por meio da aplicação de pressões e temperaturas variadas. O grupo de isoformas mais termolábeis foi submetido a pressões entre 0,1 e 900MPa combinado a temperaturas de 15 a 95°C. A inativação da enzima nestas condições pode ser descrita por um modelo de primeira ordem, estimando-se a taxa de inativação e a atividade da fração lábil constantes em função da pressão e temperatura. A fração estável só foi inativada em temperaturas superiores a 75°C. A acidificação (pH 3,7) tornou a inativação da fração mais estável mais rápida.

#### 2.6.4. A influência do pH na inativação térmica da pectinesterase

Segundo Fox (1991) o pH altera a atividade da enzima por alterar a estrutura da proteína e o sítio de ligação entre a enzima e o substrato. Também pode mudar as propriedades dos aminoácidos ou cofatores envolvidos na atividade catalítica da enzima e alterarem a ionização do substrato.

Rouse; Atkins (1953) avaliaram a influência do pH na cinética térmica das enzimas de sucos cítricos de laranja Hamlin e Pinapple, pomelo Marsh, tangerina Dancy e lima da Pérsia. Para as laranjas Hamlin e Pinapple, foram estudados os pHs 3,2; 3,8 e 4,2, para a Grapefruit Marsh, os pHs 3,0; 3,4 e 3,8, para a lima da Pérsia o pH 2,4 e para a tangerina o pH 3,8. Em todos os casos observou-se uma inativação maior nos pHs menores, nas mesmas temperaturas.

Körner; Zimmermann; Berk (1980) verificaram a influência do pH na atividade da enzima. O ponto máximo de atividade foi encontrado para o pH 7,5 e o ponto mínimo para pHs inferiores a 4,0. O pico de atividade também foi avaliado sob a influência da temperatura. A atividade máxima da pectinesterase foi observada a 60°C e o mínimo em temperaturas inferiores a 20°C e superiores a 80°C. Marshall; Marcy; Braddock (1985) estudaram a influência do pH na cinética de inativação térmica, por meio do ajuste do pH do suco para os valores 7 e 4,02. Os autores verificaram que a inativação térmica a 90°C foi mais rápida para o suco com o maior valor de pH.

Em Badolato (2000), sucos com pH de 3,4 requereram um tratamento mais brando se comparados a sucos com pH 4,0 para se obter um mesmo grau de inativação da pectinesterase. Collet et al. (2001) ajustaram dados experimentais da inativação enzimática da pectinesterase em pH 3,87 a um modelo matemático de 3 parâmetros considerando que a enzima é constituída de dois componentes. O pH foi citado como influenciador da cinética, sendo sugerida a utilização de modelos matemáticos aplicados distintamente para valores diferentes de pH, na forma de isotermas.

### 2.6.5. Modelagem da cinética de inativação enzimática

As reações enzimáticas nos alimentos geralmente ocorrem a uma taxa que é limitada pela concentração das enzimas presentes. Geralmente é considerado que a inativação térmica de enzimas seguem à cinética de primeira ordem (TOLEDO, 1991):

$$\ln\left(\frac{A}{A_0}\right) = -k \times t \quad (1)$$

onde  $A_0$  é a atividade enzimática no tempo zero,  $A$  é a atividade enzimática a qualquer tempo,  $k$  é a constante de velocidade de 1ª ordem.

Desvios dessa cinética têm sido descritos por vários pesquisadores (CERF, 1977; BAILEY; OLLER, 1986 apud FUJIKAWA; ITOH, 1996). Modelos têm sido propostos para explicar as inativações não de 1ª ordem. Entre os modelos, um multicomponente (ou multifração) de 1º ordem é expresso como a soma da cinética de seus componentes. Supõe-se que cada componente siga a inativação de 1ª ordem durante o aquecimento. Este modelo tem sido estudado principalmente para a inativação térmica de enzimas que consistem de isoenzimas com estabilidades térmicas diferentes.

Polakovic; Vrábel (1996) apresentam uma revisão sobre avaliação isotérmica de cinética de inativação utilizando dados de literatura exibindo desvios da cinética de 1ª ordem. Segundo os autores a informação principal para elucidar a cinética da inativação enzimática é por meio da medida da atividade. Conseqüentemente, a atividade da enzima fornece a melhor informação quantitativa sobre o fenômeno da perda de atividade, mas é difícil relacioná-lo às mudanças que ocorrem na sua estrutura. Para se obter um ajuste adequado de modelos de cinética de inativação térmica, curvas isotérmicas devem ser obtidas experimentalmente a partir de no mínimo seis pontos, excluindo-se o valor inicial.

Chen; Wu (1998) investigaram a representação da cinética de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja por meio do uso de modelos de 1ª ordem para um sistema com dois componentes. O modelo log-linear convencional foi aplicado para determinação dos valores de  $D$  e  $z$  das formas termolábeis e termoestáveis da PE, respectivamente, para o uso do modelo de dois componentes.

Foi incluído um parâmetro de concentração. Este modelo de dois parâmetros se mostrou coerente com as cinéticas obtidas a partir do tratamento térmico e é especialmente útil para otimização das condições de tempo e temperatura de pasteurização de sucos cítricos.

Partindo da definição de Versteeg et al. (1980) de que a enzima pectinesterase do suco de laranja consiste em duas isoformas PEI e PEII e uma isoforma de alto peso molecular, Chen; Wu (1998) denominaram de  $a$  a quantidade das frações termolábeis PEI e PEII e de  $1-a$ , a forma remanescente e termoestável (PE de alto peso molecular). Desta maneira, as isoenzimas ficaram separadas em dois grupos, um grupo com a mais termoresistente e outro grupo com as menos termoresistentes, ambos sendo inativados de acordo com um modelo de cinética de 1ª ordem. A inativação de cada grupo foi assumida como independente do outro grupo.

À temperatura constante, pH específico e teor de sólidos solúveis determinado, um modelo de dois componentes pode ser descrito como:

$$\frac{A}{A_0} = a \times \exp(-k_1 \times t) + (1 - a) \times \exp(-k_2 \times t) \quad (2)$$

onde  $A$  é a atividade da PE após a pasteurização (PEU/ g °Brix),  $A_0$  é a atividade da PE no suco não processado (PEU/ g °Brix),  $a$  é a fração molar da isoenzima menos resistente,  $t$  é o tempo de retenção (s) e  $k_1$  e  $k_2$  são as constantes da cinética de inativação das isoenzimas menos e mais resistentes, respectivamente.

## 2.7. Análise Sensorial

O aumento de competitividade e novas perspectivas de mercado impulsionam as indústrias na criação de produtos com melhor qualidade, maior extensão de vida-de-prateleira, maior produtividade, redução de custos e distribuição. Dentro destes desafios, a indústria conta com o completo conhecimento das características sensoriais dos seus produtos e da atitude do consumidor em relação a eles (CARDELLO; CARDELLO, 1998).

A qualidade sensorial do suco de laranja é fator determinante na sua aceitação e muitos estudos têm mostrado que as qualidades sensoriais e a



composição de aromas mudam com o tratamento térmico e o tempo de estocagem (TONDER et al., 1998).

A qualidade que gera um primeiro impacto na hora do consumidor decidir adquirir o produto é a sua aparência visual. A cor natural do suco de laranja sempre foi considerada como uma das suas maiores vantagens qualitativas. Os carotenóides presentes no suco são responsáveis pela pigmentação associada com a cor do sol, produzindo um efeito que complementa o sabor e o aroma agradável do suco de laranja. Alterações na coloração dos alimentos podem ser associadas ao tratamento térmico sofrido. Várias reações como a destruição de pigmentos e as reações de escurecimento não-enzimático (Maillard), produzindo pigmentos escuros, podem ocorrer durante o tratamento térmico e afetar negativamente a cor do produto. A manutenção da cor característica do suco natural pode ser utilizada como indicador de qualidade para quantificar a extensão da degradação durante o processo térmico (KIMBALL, 1991; ÁVILA; SILVA, 1999).

O suco de laranja é composto de 217 substâncias voláteis: diferentes álcoois, aldeídos, ésteres, ácidos e cetonas (ALBEROLA; IZQUIERDO, 1987). Devido a esta complexidade de aromas que compõem o suco de laranja, é difícil correlacionar dados obtidos nas análises físico-químicas à qualidade sensorial do produto e, portanto a análise sensorial do suco é de grande contribuição. Assim, os órgãos dos sentidos humanos são utilizados como instrumentos de medida nos testes sensoriais. Dentre outras vantagens, são os únicos capazes de determinar a aceitação de um produto por parte dos consumidores.

A Análise Descritiva Qualitativa (ADQ) é um método utilizado para a definição de termos e procedimentos apropriados na análise de um produto específico. Um grupo de provadores deve ser selecionado de acordo com a habilidade individual de discriminar diferenças nas características sensoriais nas amostras do produto a ser analisado. Este grupo depois de seguidas análises do produto e dos ingredientes de referência e da avaliação estatísticas dos resultados obtidos levam à escolha de termos que melhor caracterizam sensorialmente o produto (LEE; COATES, 1999). Em Badolato (2000) e Della Torre (2003) foi realizada ADQ do suco de laranja minimamente processado e o resultado está apresentado na Tabela 2.5.

Tabela 2.5 – Termos apropriados para caracterização sensorial do suco de laranja processado segundo ADQ realizada por Della Torre (2003).

<b>DESCRITORES</b>	
<b>Genéricos</b>	<b>Específicos</b>
Aparência	Cor amarela e Presença de partículas
Aroma	Característico de laranja e Laranja fermentada
Sabor	Característico de laranja, Laranja fermentada, Gosto ácido e Gosto amargo

Segundo Meilgaard; Civille; Carr (1987), para se avaliar a vida de prateleira de um produto ou os seus limites de qualidade no decorrer do tempo, deve ser realizada análise sensorial em relação à sua aceitação e à algumas características chave por um grupo de provadores treinados. Esta análise sensorial deve ser repetida em intervalos regulares durante o período de estocagem, sempre sendo realizada em comparação ao produto controle, que deve ser idêntico ao produto a ser avaliado, porém estocado em condições que inibam a deterioração, como por exemplo, o congelamento a baixas temperaturas.

Na determinação da vida de prateleira pode ser utilizado o método de análise de regressão definindo-se, por exemplo, que um atributo deva chegar ao valor de 5 cm numa escala não estruturada de 9 cm; dessa forma a partir dos pontos obtidos no decorrer do tempo pode-se fazer uma regressão linear para um intervalo de 95% de confiança, onde seja possível encontrar um tempo de vida de prateleira médio que pode variar dentro de um intervalo de  $\pm 5\%$  (FARIA; MORI; YOTSUYANAGI, 2000).

Petersen; Tonder; Poll (1998) compararam a vida de prateleira normal (5 e 20°C) e acelerada (30, 40 e 50 °C) do suco de laranja reconstituído de uma marca comercial brasileira. O painel de provadores foi treinado por três vezes consecutivas em relação ao produto e as características julgadas. As características sensoriais avaliadas foram: odor de laranja, odor fermentado/oxidado (*off-flavor*), sabor de laranja, sabor fermentado/oxidado (*off-flavor*), gosto amargo e gosto ácido. As características de odor foram avaliadas primeiramente, seguidas das características de sabor.

## 2.8. O suco de laranja minimamente processado

Segundo Ohlsson (1994) citado por Welty-Chanes et al. (1997) a definição de alimentos minimamente processados inclui os procedimentos que causam as menores alterações possíveis na qualidade do produto (mantendo-no com as características sensoriais do produto fresco) e ao mesmo tempo possibilitem uma vida de prateleira suficiente para que o produto chegue ao consumidor em perfeito estado. A Quadro 2.1 apresenta características dos produtos enquadrados na categoria de minimamente processados.

Quadro 2.1 – Comparação entre tipos de preservação de alimentos (WILEY, 1994 apud WELTI-CHANES, 1997).

<b>Categoria</b>	<b>Não Processado</b>	<b>Minimamente Processado</b>	<b>Preservado pelo Calor</b>
<b>Qualidade do Produto</b>	Fresco	Características próximas ao fresco	Características fortemente alteradas
<b>Método de Preservação</b>	Sem utilização de método de preservação	Requer métodos de preservação mínimos	Requer tratamento térmico
<b>Estocagem e vida de Prateleira</b>	Pode ou não necessitar de refrigeração	Requer refrigeração	Pode ou não ser estável à temperatura ambiente
<b>Embalagem</b>	Pode ou não necessitar de embalagem	Requer embalagem	Requer embalagem hermeticamente fechada.

O suco de laranja minimamente processado, armazenado em latas de alumínio e refrigerado, foi analisado microbiologicamente por um período de 57 dias, mantendo contagem de leveduras e bolores inferiores ao limite estabelecido pela legislação brasileira vigente na época do estudo, o que mostrou ser viável a sua comercialização por este período (SHIGEOKA, 1999).

Segundo Badolato (2000) e Sugai et al. (2002), o tratamento térmico do suco de laranja a uma temperatura e tempo mínimos leva a um produto de melhor aceitação pelo consumidor se comparado aos sucos pasteurizados existentes no mercado. Os atributos sensoriais do suco de laranja minimamente processado apresentam pequena diferença quando comparados ao suco de laranja natural não processado. A proximidade das características sensoriais do suco de laranja minimamente processado com o suco de laranja fresco atende à preferência do consumidor, em especial o brasileiro, que rejeita o FCOJ e a quem o suco de laranja fresco é muito acessível.

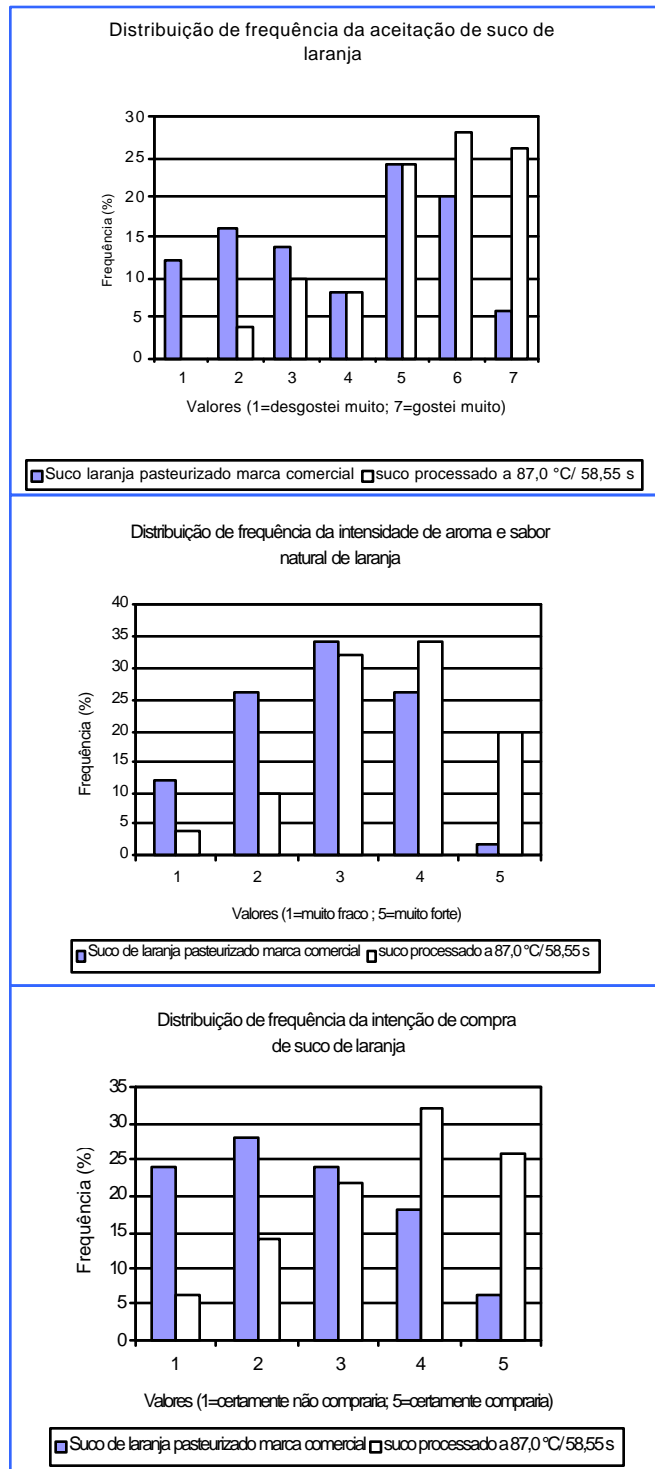
Os resultados deste estudo de aceitação do consumidor, realizado com 50 pessoas, é apresentado na forma de histogramas de frequência dos valores atribuídos à aceitação do suco, à intensidade de aroma, ao sabor natural de laranja e à intenção de compra, comparando o suco de laranja minimamente pasteurizado com um suco de laranja pasteurizado convencionalmente, de marca comercial (Figura 2.7).

Os principais motivos citados por alguns consumidores para explicar a preferência pela amostra de suco de laranja processado a 87,0°C/58,55s, foram o aroma e o sabor de suco de laranja natural (40%). A menor preferência dada à amostra comercial foi caracterizada pelo aroma e sabor de laranja fermentada/oxidada (14%), aroma e sabor de suco industrializado/artificial (26%) e sabor estranho lembrando a medicamento/produto químico (12%).

Na Figura 2.7, pode-se verificar valores mais altos com maiores frequências (%) para a amostra de suco processado a 87,0°C/ 58,55s em comparação aos valores atribuídos à marca comercial. Neste caso, pode-se visualizar a maior aceitação da amostra de suco minimamente processado comparada à amostra de suco pasteurizado de marca comercial (DELLA TORRE et al., 2003).

Tribess; Tadini (2001) levantaram aspectos econômicos relevantes para a previsão de um posicionamento do suco de laranja minimamente processado no mercado. Para a indústria, o processamento mínimo do suco de laranja pode ser vantajoso sob vários aspectos. Para aquelas tradicionalmente exportadoras, pode ser uma alternativa de produto para o mercado interno, que se encontra em franca expansão (Figura 2.1), e é mais estável se consideradas as variações nas exportações de suco. É um produto que necessita um menor gasto energético durante sua

fabricação e armazenamento, por ser mantido apenas refrigerado e por sofrer um tratamento térmico brando.



Fonte: Della Torre et al., 2003.

Figura 2.7 - Histogramas de frequência dos valores atribuídos à aceitação do suco, a intensidade de aroma e sabor natural de laranja e a intenção de compra.

Por outro lado, para o produtor de laranjas ou pequeno investidor, o processamento mínimo do suco de laranja pode ser visto como um novo ramo de investimentos, tendo em vista os baixos custos dos equipamentos, e conseqüentemente da sua implantação, quando comparado ao processamento de suco de laranja concentrado congelado (FCOJ).

O suco de laranja minimamente processado pode conquistar uma fatia de mercado que não pertence a nenhum produto industrializado atualmente. Atendendo às expectativas dos consumidores exigentes, que rejeitam os produtos existentes, além de ir ao encontro da tendência mundial de opção dos consumidores por produtos prontos industrializados, muito mais práticos do que a manufatura doméstica, e no caso do suco de laranja minimamente processado, muito próximo ao suco fresco obtido da laranja *in natura*.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Matéria-prima:

O suco foi extraído de duas variedades de laranja cultivadas no estado de São Paulo, a laranja pêra (*Citrus aurantium L.*), com pH variando entre 3,6 e 4,1 e a laranja lima (*Citrus aurantifolia*), com pH variando entre 5,1 e 5,5. As laranjas foram escolhidas de forma que a sua mistura atendessem aos valores de pH pré-determinados (3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0 e 4,1). Os valores de pH foram selecionados a partir da variação do pH do suco de laranja obtido no estado de São Paulo no decorrer da safra 1999/2000 (BADOLATO, 2000).

A escolha das frutas foi realizada no momento da compra junto ao fornecedor (CEAGESP - Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo) com o auxílio de pHmetro e refratômetro portáteis.

As frutas para a extração do suco foram adquiridas entre os meses de março e dezembro de 2002. Para cada série consecutiva de ensaios foram utilizadas quatro caixas de aproximadamente 21 kg cada uma, podendo conter de 13 a 14 dúzias de laranja.

#### 3.2. Equipamentos

Os equipamentos relacionados a seguir foram utilizados na extração do suco, processamento térmico, execução das análises físico-químicas, sensorial, da medida da atividade de pectinesterase e no armazenamento do produto:

a) Trocador de calor tipo placas marca *Armfield*, modelo FT43A (Figura 3.1) com os seguintes componentes e acessórios: unidade processadora de pasteurização, console de controle, tanque de alimentação de 4 litros, bomba peristáltica com variador de vazão, dois tubos de retenção (75,8 e 240 cm<sup>3</sup>), controlador de temperatura, circulador de água gelada, interface para aquisição da temperatura através de termopares tipo T, acoplada a PC, *Armfield*, modelo FT43A-90IFD.



Figura 3.1- Pasteurizador de laboratório marca *Armfield*, modelo FT43A.

b) Máquina extratora de suco, marca *FMC Fresh*, com capacidade de processo de 20 frutas por minuto. A extração permite a separação da casca e das partes internas da laranja, de forma a não permitir que o óleo essencial da casca seja misturado ao suco.

c) Refratômetro, marca *Carlzeissjena*, modelo I, precisão 0,1°Brix.

d) Refratômetro portátil, marca *Kok Gyem*, modelo 06-101.

e) pHmetro digital portátil com eletrodo e maleta plástica, marca *Analion*.

f) Equipamento de medida de pH e titulação pH-Stat, marca *Radiometer*, modelo PHM - 290 com Autobureta ABU 901 (Figura 3.2).

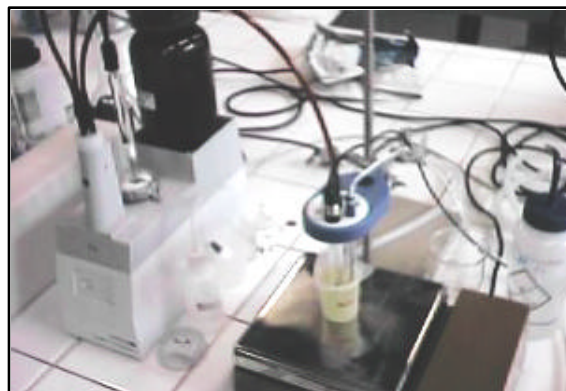


Figura 3.2 - pH-Stat marca *Radiometer* modelo PHM – 290.

g) Estufa a vácuo, marca *Marconi*, modelo MA 030, 220V.

h) Bomba a vácuo, marca *Marconi*, modelo MA 760, 220V.



- i) Centrífuga marca *Tominaga*, modelo TD – 65.
- j) Refrigerador doméstico, marca *Cônsul*, modelo CRA 32.
- k) Balança analítica, marca *Chyo*, modelo JK 200, precisão 0,0001g, 220V, 60Hz.
- l) Cabine de Cores, marca *Hunter Lab*, modelo Pro Vue II.
- m) Plasma Freezer Vertical, marca *Fanem*, modelo 349 FV.

### 3.3. Reagentes

Os reagentes relacionados a seguir foram utilizados na execução das análises físico-químicas e da medida da atividade de pectinesterase:

- a) Solução de hidróxido de sódio 0,2 N.
- b) Solução de hidróxido de sódio 0,1 N.
- c) Solução de hidróxido de sódio 0,05 N.
- d) Solução de hidróxido de sódio 0,01 N.
- e) Solução de hidróxido de sódio 0,005 N.
- f) Solução de hidróxido de sódio 0,002 N.
- g) Solução de hidróxido de sódio 0,0015 N.
- h) Solução de hidróxido de sódio 0,0005 N.
- i) Cloreto de sódio padrão analítico.
- j) Pectina Cítrica, *Sigma*, P-9436 com grau de metoxilação de 67%.
- k) Solução tampão pH  $4,00 \pm 0,01$ , procedência *Merck*.
- l) Solução tampão pH  $7,00 \pm 0,01$ , procedência *Merck*.
- m) Solução tampão pH  $10,00 \pm 0,01$ , procedência *Merck*.
- n) Cloreto de cálcio anidro paradessecador.

### 3.4. Embalagem

Garrafas de PEAD (polietileno de alta densidade) de capacidade de 300 mL.

### 3.5. Descrição do Processo

As laranjas foram selecionadas e lavadas. A extração do suco foi realizada na máquina extratora *FMC Fresh*. Os sucos de laranja Pêra e de laranja Lima foram extraídos em recipientes separados e tiveram o seu pH medido imediatamente após a extração. A partir dos valores conhecidos de pH, a mistura do suco foi conduzida em um recipiente com capacidade para 20 litros de forma a atender o valor de pH pré-determinado para o ensaio. Da mistura foram retiradas amostras do suco não processado em tubos de ensaio imersos imediatamente em banho de gelo seguido de congelamento, para posterior determinação da atividade da pectinesterase. Parte do suco não processado foi embalado em garrafas PEAD e armazenado em refrigerador para posterior realização das análises físico-químicas.

O suco mistura com o pH conhecido foi submetido ao processo de pasteurização, conduzido no trocador de calor a placas de laboratório *Armfield*. Antes de cada processamento do suco de laranja, o trocador teve a sua vazão (variando entre  $2 \times 10^{-3} \text{ kg.s}^{-1}$  e  $1 \times 10^{-2} \text{ kg.s}^{-1}$ ) e temperaturas ajustadas e estabilizadas utilizando-se água destilada. Após a estabilização, o tanque de alimentação foi alimentado com o suco mistura, de forma a manter constante o volume de 4 litros de suco. O suco mistura foi mantido reservado em um recipiente de 20 litros, sendo agitado constantemente para que fosse minimizado o efeito da decantação de polpa.

Foram realizados ensaios nas temperaturas de 82,5°C; 85,0 °C e 87,5°C em diferentes tempos de retenção (calculados pela razão entre o volume do tubo de retenção e a vazão volumétrica do suco) para cada valor de pH, de forma a se obter um conjunto de dados suficiente (sete pontos, no mínimo, em cada temperatura e pH) para a obtenção das curvas de cinética de inativação térmica da pectinesterase, conforme recomendado por Polakovic; Vrabel (1996).

Os ensaios foram conduzidos de acordo com a matriz de experimentos constituída de três variáveis: temperatura de pasteurização em 3 níveis (82,5°C,

85,0°C e 87,0°C), tempo de retenção no mínimo em 7 níveis (variando entre 0 e 115s) e pH em seis níveis (3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0; e 4,1).

### 3.5.1. Dimensionamento do trocador para utilização com suco de laranja natural

O dimensionamento adequado do arranjo de placas para as condições desejadas para a pasteurização do suco de laranja foi realizado através de simulação da transferência de calor no programa desenvolvido em linguagem *Visual Basic* versão 4.0, a partir da relação empírica obtida do desempenho térmico do trocador com água destilada e das propriedades termofísicas do suco de laranja obtidas na literatura (PEACOCK, 1995; MATHIAS; TADINI, 1998; MARQUES; TADINI, 1999).

O trocador de calor de placas utilizado nos ensaios possui uma seção de aquecimento composta por seis passes de uma passagem, uma seção de regeneração com arranjo de dez passes de uma passagem e uma seção de resfriamento com quatro passes de uma passagem (Figura 3.3).

## 3.6. Análises

A cada ensaio, as amostras de suco processado e não-processado foram acondicionadas em garrafas PEAD e em tubos imediatamente imersos em banho com gelo. As amostras foram analisadas sob os seguintes parâmetros físico-químicos: pH, acidez titulável, sólidos solúveis (°Brix), sólidos totais, teor de polpa e atividade da pectinesterase.

Posteriormente foi conduzida a análise sensorial para a avaliação da vida de prateleira do suco processado. Foram analisados os atributos de aparência (cor e partículas na superfície), aroma (laranja natural e laranja fermentada) e sabor (ácido, amargo, característico de laranja e laranja fermentada) do suco pasteurizado em duas condições de pH/tempo de retenção/temperatura. As duas condições foram escolhidas a partir dos resultados obtidos das curvas de inativação da PE. Foi escolhido um grau de inativação da PE correspondente à queda de dois ciclos logarítmicos, em dois pHs diferentes (Quadro 3.1).

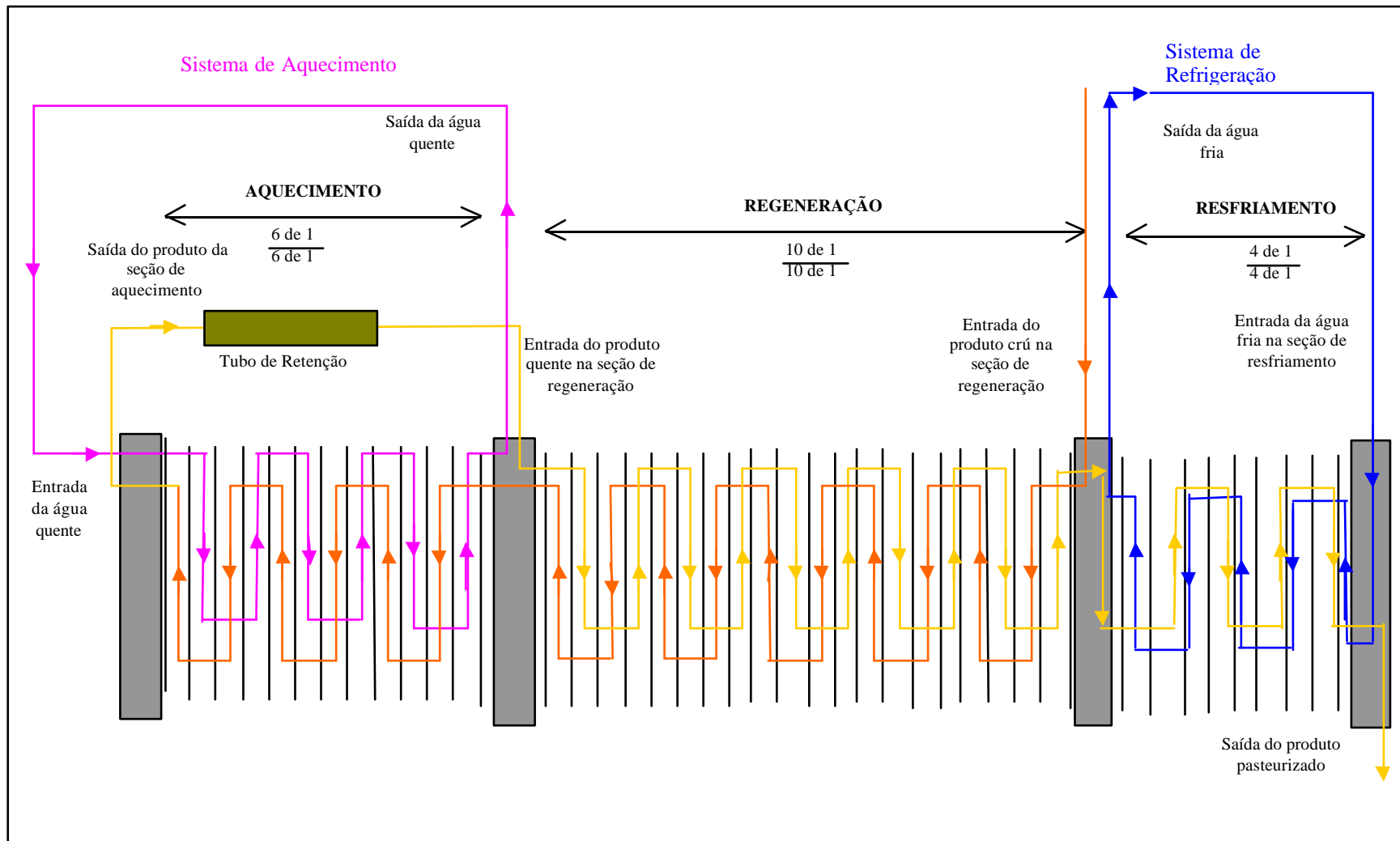


Figura 3.3 – Arranjos das três seções de troca térmica do trocador de calor a placas utilizado nos experimentos.

Quadro 3.1 – pH, temperatura de pasteurização e respectivo tempo de retenção e do suco de laranja submetido à análise sensorial para estimar a vida de prateleira.

Amostra	pH	Temperatura (°C)	Tempo de Retenção (s)
1	3,6	85,0	9,1
2	4,0	87,5	9,4

Durante o período da análise sensorial (ADQ) para a estimativa da vida de prateleira do suco, análises físico-químicas de acidez titulável, sólidos solúveis e determinação de polpa foram conduzidas em todos os dias de análise e os teores de sólidos totais que foram determinados somente uma vez.

A frequência da análise sensorial (ADQ) foi de duas vezes por semana até que a intensidade de diferença entre as amostras armazenadas em refrigerador a 4°C em relação ao suco processado padrão (que foi conservado congelado e descongelado no dia da análise) chegasse a 50%.

### 3.6.1. Análises físico-químicas

As análises físico químicas realizadas em duplicata, conforme referências:

- a) pH: Medido em pH-Stat *Radiometer* modelo PHM-290.
- b) Acidez Titulável expressa como % de ácido cítrico: Realizada conforme o método da Association of Official Analytical Chemists (AOAC), conduzida no pH-Stat até atingir pH 8,2 referente ao pH de mudança de coloração do indicador fenolftaleína (AOAC,1995).
- c) Sólidos solúveis (°Brix): Medido em refratômetro marca *Carlzeiss Jena*, com correções de acidez e temperatura (KIMBALL, 1991).
- d) Sólidos totais: Segundo método da AOAC (1995), por meio da secagem a 70 °C, sob pressão  $\leq 100\text{mmHg}$ , com pesagens consecutivas em intervalos de duas horas até ser encontrada uma variação  $\leq 3 \text{ mg}$ .
- e) Determinação do teor de polpa: A determinação foi realizada segundo método descrito por Kimball (1991). O suco foi centrifugado em um tubo

graduado de vidro com volume de 50 mL por 10 minutos a 378 g. O teor de polpa foi lido diretamente da altura de polpa decantada no tubo graduado.

### 3.6.2. *Análise da atividade da enzima pectinesterase*

Foi conduzida conforme Rouse; Atkins (1953) em duplicata, utilizando-se o pH-Stat, *Radiometer* modelo PHM-290. A reação foi conduzida durante 30 min. utilizando-se substrato Pectina Cítrica (*Sigma* P-943 com alto grau de metoxilação) a pH 7,5 (pH de máxima atividade da enzima pectinesterase) e à temperatura de 30°C.

A inativação da pectinesterase foi obtida como a razão da atividade residual da pectinesterase, quantidade remanescente da enzima em unidades de pectinesterase/ml°Brix, após o processamento térmico (PEU), pela atividade da pectinesterase, em unidades de pectinesterase/ml°Brix, determinada no suco não processado (PEUo).

### 3.6.3. *Análise sensorial*

A análise sensorial na forma de análise descritiva qualitativa (ADQ) foi aplicada em provadores selecionados em função da capacidade de reconhecer e ordenar os gostos básicos e treinados para avaliar suco de laranja com relação aos atributos de aparência (cor e partículas na superfície), aroma (laranja natural e laranja fermentada) e sabor (ácido, amargo, característico de laranja e laranja fermentada) (BADOLATO, 2000; DELLA TORRE et al., 2003).

No treinamento os provadores foram introduzidos às características mais importantes do suco de laranja. Foi apresentada uma descrição teórica destas características (Quadro 3.2) e os extremos de cada característica puderam ser analisados sensorialmente. As Figuras 3.4, 3.5 e 3.6 ilustram exemplos de extremos das características apresentadas aos provadores durante o treinamento.

Foram realizadas duas simulações da análise sensorial em dias diferentes com sucos de características variadas e posterior discussão das avaliações de cada provador e busca de um senso comum entre todos os provadores.

Quadro 3.2 – Descritores, definições e materiais de referências para suco de laranja.

<b>Descritores</b>	<b>Definições</b>	<b>Materiais de Referência</b>
<b>Aparência</b>		
Cor amarela	Tonalidade da cor amarela de suco natural fresco.	Suco natural fresco de laranja Lima e de Morkote.*
Partículas	Presença de partículas (bagacinhos) em suspensão no suco de laranja.	Adição de 10g de partículas (bagacinhos) a 100 mL de suco de laranja pasteurizado.*
<b>Aroma</b>		
Característico de laranja	Sensação olfativa associada ao aroma característico de suco de laranja recém-pasteurizado.	Suco de laranja recém-pasteurizado.*
Laranja fermentada	Sensação olfativa associada ao aroma lembrando à laranja passada / fermentada.	Aroma de suco de laranja pasteurizado envelhecido, lembrando à laranja passada / fermentada.*
<b>Sabor</b>		
Característico de laranja	Sensação gustativa associada ao sabor característico de suco de laranja recém-pasteurizado.	Suco de laranja recém-pasteurizado.*
Laranja fermentada	Sensação gustativa associada ao sabor lembrando à laranja passada / fermentada.	Sabor de suco de laranja pasteurizado já envelhecido, lembrando à laranja passada.*
Gosto ácido	Sensação do gosto ácido na língua.	Adição de 0,7g de ácido cítrico em 100mL suco de laranja recém-pasteurizado.*
Gosto amargo	Sensação do gosto amargo na língua.	Adição de 0,2g de cafeína em 100 mL de suco de laranja recém-pasteurizado.*

\* extremo de maior intensidade do atributo.



Figura 3.4 – Exemplo de extremos – Ausência e presença de partículas na superfície.



Figura 3.5 – Exemplos de extremos – Cor clara e cor escura / ausência e presença de partículas na superfície.

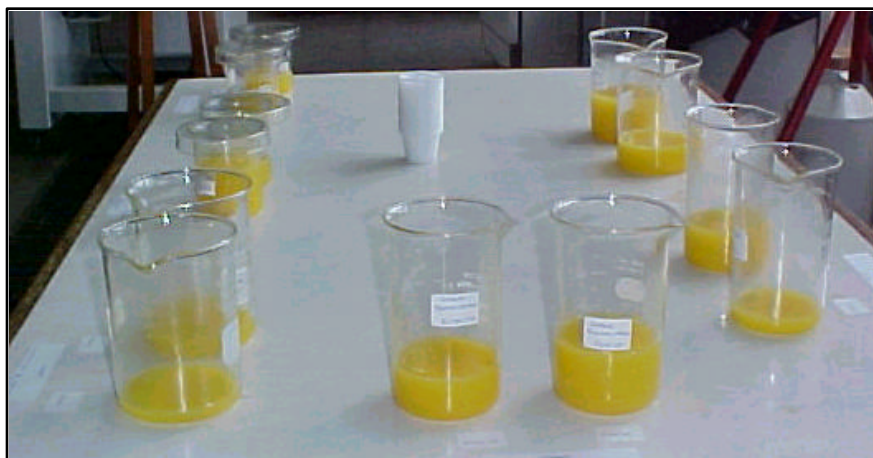


Figura 3.6 – Exemplos de extremos – Sabores (ácido, amargo, laranja e fermentado) e Aromas (laranja e fermentado).



Cada atributo foi associado a uma escala linear não-estruturada de 9 cm (ISO nº 4121, 1987), ancorada nos pontos extremos pelos termos que indicam as intensidades “pouca”/“muita” e “fraca”/“forte” (Figura 3.7). A aparência foi conduzida em cabine de análise de cores marca *Hunter Lab*, modelo Pro Vue II com lâmpada fluorescente artificial tipo “luz do dia”.

Os atributos de odor e sabor foram avaliados em cabines individuais, longe de ruídos e odores estranhos. No planejamento dos testes, foram tomados cuidados com relação à seleção das amostras, forma de apresentação, codificação e aleatorização.

A análise sensorial (ADQ) foi então aplicada aos provadores na frequência de duas vezes por semana.

NOME: _____		DATA: ____/____/____	
Por favor, prove as amostras codificadas de suco de laranja e marque com um traço vertical a intensidade de cada um dos atributo na escala abaixo.			
<b>APARÊNCIA</b>			
Cor amarela	_____	clara	escura
Partículas	_____	nenhuma	muita
<b>AROMA</b>			
Característico de laranja	_____	fraco	forte
Laranja fermentada	_____	ausente	forte
<b>SABOR</b>			
Característico de laranja	_____	fraco	forte
Laranja fermentada	_____	ausente	forte
Ácido	_____	fraco	forte
Amargo	_____	fraco	forte
Indique se as amostras codificadas estão próprias para o consumo, marcando na linha abaixo:			
<b>CONSUMO</b>	_____	Impróprio	próprio
Indique a intensidade da diferença entre as amostras codificadas e o padrão, marcando na linha abaixo			
	_____	nenhuma diferença	muita diferença
Comentários: _____			

Figura 3.7 – Ficha utilizada na análise sensorial aplicada para estimar a vida de prateleira do suco de laranja minimamente processado.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios de processamento contínuo foram finalizados conforme o previsto na matriz formada pelos seis valores de pH (3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0; 4,1) e três temperaturas de pasteurização (82,5 °C, 85,0 °C e 87,5 °C).

No total foram conduzidos 36 processos de extração do suco, seguidos da mistura com valor de pH controlado, e a partir desta, a obtenção do suco não processado e do suco pasteurizado, além de dois processos de extração de suco e pasteurização para a análise sensorial. Os tratamentos térmicos foram realizados nas três temperaturas, com tempos de retenção variados, totalizando 151 diferentes tratamentos. Foram utilizadas 1,5 toneladas de laranjas, na produção de 900 litros de suco.

A seguir serão apresentados os resultados e o tratamento dos dados referentes às características físico-químicas do suco processado e não processado, a atividade residual da pectinesterase e o ajuste das cinéticas de inativação térmica da pectinesterase e os resultados da análise sensorial.

### 4.1. Características físico-químicas do suco de laranja natural não processado.

O suco de laranja não processado foi analisado, sempre em duplicata, sob os aspectos físico-químicos: pH, acidez titulável, sólidos solúveis, polpa e sólidos totais. O *ratio* foi obtido como a relação entre os sólidos solúveis, expressos em °Brix, e a acidez, expressa em porcentagem de ácido cítrico. Os resultados obtidos nas análises físico-químicas do suco de laranja não processado das misturas realizadas estão apresentadas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Valores médios de acidez titulável (% ácido cítrico), ratio, teor de sólidos solúveis (% Brix), polpa (% v/v) e sólidos totais (%) da mistura de suco de laranja não processado.

<b>Mistura</b>	<b>pH</b>	<b>Acidez<sup>1</sup> (%)</b>	<b>Sólidos Solúveis<sup>2</sup> (° Brix)</b>	<b>Ratio<sup>3</sup></b>	<b>Polpa (% v/v)</b>	<b>Sólidos Totais (%)</b>
1	4,0	0,58	10,01	17,35	18,5	10,21
2	4,0	0,54	10,10	18,60	13,0	10,20
3	4,1	0,43	10,28	24,11	13,5	9,77
4	4,1	0,51	9,24	18,10	19,0	9,55
5	3,6	0,83	10,45	12,58	13,0	9,91
6	3,6	0,89	10,45	12,58	16,0	9,90
7	4,0	0,52	10,20	19,59	19,0	10,46
8	3,7	0,98	10,55	10,74	18,0	10,50
9	3,7	0,87	9,72	11,17	14,5	9,82
10	4,0	0,68	10,18	14,91	15,0	10,10
11	4,0	0,61	9,47	15,45	14,5	9,35
12	3,6	0,97	8,67	8,94	8,0	8,72
13	3,6	0,87	8,60	9,88	12,0	8,53
14	3,6	0,99	12,00	12,14	13,5	12,12
15	3,6	0,82	9,34	11,33	11,5	9,08
16	3,7	0,83	12,55	15,09	12,0	12,56
17	3,7	0,82	8,64	10,48	14,0	8,57
18	3,7	0,86	8,80	10,20	12,5	8,78
19	3,7	0,76	8,89	11,66	13,0	9,07
20	3,8	0,82	11,97	14,61	13,0	11,99
21	3,8	0,75	8,94	11,90	11,0	8,97
22	3,8	0,87	11,88	13,39	14,5	11,91
23	3,8	0,74	9,13	12,31	12,0	8,96
24	3,8	0,92	11,98	12,95	12,5	11,89

Mistura	pH	Acidez <sup>1</sup> (%)	Sólidos Solúveis <sup>2</sup> (° Brix)	Ratio <sup>3</sup>	Polpa (% v/v)	Sólidos Totais (%)
25	3,8	0,73	9,13	12,44	12,0	9,15
26	3,9	0,81	10,35	12,78	13,5	10,31
27	3,9	0,80	10,28	12,85	13,0	10,35
28	3,9	0,76	9,96	13,06	11,0	10,17
29	3,9	0,80	10,29	12,81	12,5	10,35
30	3,9	0,90	12,89	14,34	13,0	12,92
31	3,9	0,69	11,08	16,05	13,5	11,12
32	3,9	0,85	13,63	16,05	14,0	13,65
33	4,1	0,60	10,72	17,92	15,0	10,94
34	4,1	0,51	10,71	20,97	13,5	11,12
35	4,1	0,53	10,99	20,56	12,5	11,10
36	4,1	0,68	12,64	18,67	12,0	12,65

<sup>1</sup>Acidez (%): acidez titulável expressa em porcentagem de ácido cítrico.

<sup>2</sup>Sólidos Solúveis (° Brix): valor corrigido para temperatura e acidez.

<sup>3</sup>Ratio: relação sólidos solúveis/acidez.

A análise estatística foi aplicada para verificar as variações nas misturas de suco de laranja, quanto às suas características físico-químicas para os valores de pH controlados. A Tabela 4.2 indica o resultado da ANOVA *one way* aplicada nos valores obtidos das análises físico-químicas no suco não-processado, para significância  $p < 0,05$ , confirmada pelo teste Tukey HSD.

Tabela 4.2 – Análise estatística (ANOVA) das características físico-químicas do suco de laranja não processado nos pHs controlados.

pH	3,6	3,7	3,8	3,9	4,0	4,1	DMS <sup>1</sup>
Acidez <sup>2</sup> (%)	0,89 <sup>a</sup>	0,85 <sup>a</sup>	0,81 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	0,59 <sup>b</sup>	0,54 <sup>b</sup>	0,13
Sólidos Solúveis <sup>3</sup> (° Brix)	9,92 <sup>a</sup>	9,86 <sup>a</sup>	10,51 <sup>a</sup>	11,21 <sup>a</sup>	10,00 <sup>a</sup>	10,76 <sup>a</sup>	2,41
Ratio <sup>4</sup>	11,24 <sup>a</sup>	11,56 <sup>a</sup>	12,93 <sup>a</sup>	13,99 <sup>a</sup>	17,18 <sup>b</sup>	20,05 <sup>b</sup>	3,19
Polpa (%)	12,33 <sup>a</sup>	14,00 <sup>a</sup>	12,50 <sup>a</sup>	12,83 <sup>a</sup>	16,00 <sup>a</sup>	14,25 <sup>a</sup>	3,92
Sólidos Totais (%)	9,71 <sup>a</sup>	9,88 <sup>a</sup>	10,47 <sup>a</sup>	11,27 <sup>a</sup>	10,06 <sup>a</sup>	10,85 <sup>a</sup>	2,42

Letras iguais não diferem estatisticamente

<sup>1</sup>DMS – Diferença Mínima Significativa (  $p < 0,05$  )

<sup>2</sup>Acidez (%): acidez titulável expressa em porcentagem de ácido cítrico.

<sup>3</sup>Sólidos Solúveis (° Brix): valor corrigido para temperatura e acidez.

<sup>4</sup>Ratio: relação sólidos solúveis/acidez.

A análise estatística indicou que o pH da mistura ( $p < 0,05$ ) influenciou a acidez titulável, expressa como porcentagem de ácido cítrico, confirmado pelo teste Tukey HSD. Os pHs de valores entre 3,6 e 3,9 tiveram a acidez titulável significativamente maior do que os pHs 4,0 e 4,1, como esperado.

Os valores encontrados para a acidez variaram entre 0,43 e 0,99 e estão de acordo com os valores de acidez mencionados por Negri (1999), o qual afirma que a combinação das laranjas Lima e Pêra pode resultar em valores de acidez entre 0,12 e 0,95%, em média. Badolato (2000), encontrou valores de acidez variando entre 0,33 e 0,94 % ao analisar o suco de laranjas Pêra provenientes do estado de São Paulo entre os meses de junho/1999 e fevereiro/2000.

Quase não houve variação nos sólidos solúveis encontrados e a média das misturas foi de 10,4 °Brix. Este valor está um pouco abaixo da média de sólidos solúveis encontrada na laranja Pêra, que é de 11,8 °Brix e próximo da média para laranja Lima, de 10,3 °Brix (Negri, 1999).

O *ratio* apresentou uma tendência de aumento com o pH do suco como pode ser observado na Figura 4.1. Tal tendência foi observada por Snir et al. (1996), onde frutas cítricas de menor pH apresentaram *ratios* baixos e as frutas cítricas com pHs maiores apresentaram valores altos para a relação entre os sólidos solúveis e acidez.

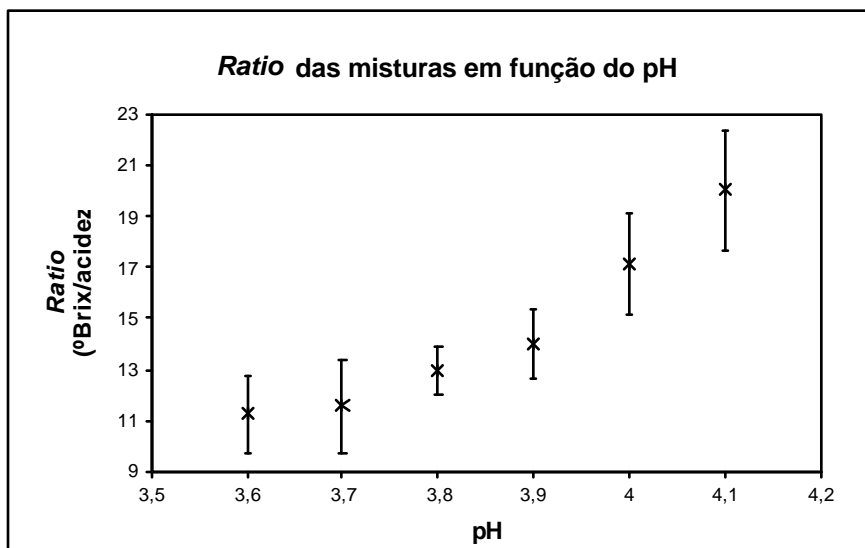


Figura 4.1 – Variação do *ratio* em função do pH das misturas de suco de laranja não processado.

Como exemplo pode-se citar o pomelo, com pH baixo, em torno de 3,25 e *ratio* variando entre 5,6 e 11,1, e variedades de laranja como a Navel e a Pinapple com pHs entre 3,81 e 4,19 e *ratio* por volta de 17,0; chegando até valores como 26,7. Esta variação também foi observada para uma mesma variedade de laranja com pHs diferentes, como a laranja Hamlin, que apresentou *ratio* de 9,0 e 14,7, para sucos com pHs 3,46 e 3,90, respectivamente (SNIR et al., 1996).

A análise estatística do *ratio* indicou que este é significativamente diferente entre os pHs inferiores (3,6 a 3,9) e os superiores (4,0 e 4,1). A análise da variância, segundo o teste ANOVA, mostrou que o *ratio* varia com o pH, de forma significativa ( $p < 0,01$ ), confirmada pelo teste Tukey HSD. A variação entre os valores extremos de *ratio* encontrados está de acordo com o que foi encontrado por Donadio (1999) e Badolato (2000).

A variação do teor de polpa e sólidos totais entre as misturas não apresentou relação com a variação do pH. A ANOVA não apresentou nenhuma diferença significativa entre os grupos analisados, confirmado pelo teste de Tukey HSD, ao nível de significância  $p < 0,05$ . A variação do teor de polpa encontrado neste trabalho, entre 8,0 e 19,0 %, foi próxima à encontrada por Badolato (2000) para suco não processado, que variou entre 12,0 e 19,0 %.

#### 4.2. Características físico-químicas do suco de laranja natural pasteurizado

O suco de laranja pasteurizado foi analisado, sempre em duplicata, sob os aspectos físico-químicos: pH, acidez, sólidos solúveis, polpa, para cada condição: temperatura – tempo de retenção. O *ratio* foi obtido como a relação entre os sólidos solúveis, expressos em °Brix, e a acidez, expressa em porcentagem de ácido cítrico. Os resultados obtidos nas análises físico-químicas do suco de laranja processado das misturas realizadas estão apresentadas na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 – Valores médios de acidez titulável (% ácido cítrico), *ratio*, teor de sólidos solúveis (% Brix) e polpa (% v/v) da mistura de suco de laranja processado.

Mistura	pH	Temperatura (°C)	Tempo de Retenção (s)	Acidez <sup>1</sup> (%)	Sólidos Solúveis <sup>2</sup> (° Brix)	<i>Ratio</i> <sup>3</sup>	Polpa (% v/v)
1	4,0	85,0	25,66	0,54	10,06	18,53	10,0
			32,96	0,55	10,06	18,14	12,5
			13,87	0,56	10,06	17,96	17,0
			11,30	0,55	10,10	18,37	16,5
			17,94	0,56	10,16	18,21	13,5
2	4,0	85,0	52,33	0,53	10,00	18,99	13,0
			104,60	0,55	10,10	18,16	13,0
			35,35	0,56	10,31	18,46	13,0
3	4,1	85,0	22,67	0,42	9,52	22,67	12,0
			13,53	0,48	10,15	20,95	12,5
			11,91	0,51	10,05	19,54	14,5
4	4,1	85,0	41,52	0,38	9,12	24,01	14,0
			54,25	0,54	8,95	16,58	13,0
			31,70	0,45	9,34	21,44	14,0
			24,63	0,44	9,34	21,35	19,5
			36,35	0,44	9,34	21,33	16,0
5	3,6	85,0	28,86	0,86	10,10	11,72	13,0
			17,38	0,83	9,85	11,87	11,0
			13,70	0,84	10,25	12,23	12,5
			18,30	0,85	10,10	11,90	13,0

Mistura	pH	Temperatura (°C)	Tempo de Retenção (s)	Acidez <sup>1</sup> (%)	Sólidos Solúveis <sup>2</sup> (° Brix)	Ratio <sup>3</sup>	Polpa (% v/v)
6	3,6	85,0	52,28	0,83	10,10	11,72	13,0
			38,95	0,87	9,85	11,87	15,0
			32,73	0,85	10,25	12,23	15,0
			60,75	0,86	10,10	11,90	14,0
7	4,0	82,5	47,04	0,52	10,45	19,88	15,0
			52,85	0,51	10,35	20,38	18,0
			44,80	0,52	10,45	19,94	16,0
			35,42	0,51	10,45	20,40	17,0
			31,06	0,51	10,35	20,30	17,0
8	3,7	85,0	29,83	0,90	10,33	11,51	14,0
			23,31	0,86	10,22	11,80	15,0
			16,57	0,91	10,23	11,27	14,0
			16,55	0,90	10,13	11,20	13,5
			15,57	0,92	10,23	11,11	12,0
			13,83	0,89	10,13	11,37	15,0
			8,65	0,90	10,23	11,40	13,5
9	3,7	85,0	65,85	0,87	9,72	11,17	11,5
10	4,0	82,5	13,90	0,67	10,17	15,13	11,5
			11,59	0,66	10,17	15,40	13,5
			29,64	0,66	10,18	14,91	12,5
		87,5	14,34	0,68	10,19	14,90	17,0
			11,78	0,69	10,19	14,70	16,5
			18,28	0,66	10,09	14,40	16,5
			18,31	0,66	10,17	15,50	15,0
			15,58	0,67	10,18	15,13	14,0
			24,23	0,66	10,17	15,50	17,0
11	4,0	82,5	64,50	0,61	9,37	15,41	11,5
			39,87	0,60	9,37	15,50	13,5
		87,5	62,23	0,59	9,37	15,89	13,5
			40,63	0,57	9,47	16,63	14,0



Mistura	pH	Temperatura (°C)	Tempo de Retenção (s)	Acidez <sup>1</sup> (%)	Sólidos Solúveis <sup>2</sup> (° Brix)	Ratio <sup>3</sup>	Polpa (% v/v)
12	3,6	82,5	21,07	0,93	8,77	9,41	10,5
			21,11	0,96	8,87	9,19	10,0
			15,23	0,92	8,66	9,42	10,5
			12,88	0,96	8,67	9,03	11,0
			11,09	0,94	8,67	9,19	10,5
13	3,6	82,5	59,68	0,84	8,6	10,21	10,0
			53,59	0,86	8,65	10,08	10,5
			46,96	0,88	8,66	9,78	11,5
			42,59	0,87	8,65	9,97	11,5
14	3,6	87,5	22,09	1,02	12,00	11,73	12,5
			21,45	0,98	12,00	12,22	12,5
			17,38	0,99	12,00	12,12	13,5
			15,09	1,02	12,00	11,80	12,5
			13,13	1,00	12,00	12,05	13,5
15	3,6	87,5	59,20	0,76	9,43	12,44	12,0
			50,22	0,80	9,29	11,67	11,5
			41,94	0,76	9,33	12,34	11,0
			37,13	0,80	9,34	11,65	11,0
16	3,7	82,5	15,08	0,85	12,35	14,61	10,5
			12,70	0,85	12,50	14,79	13,0
			11,12	0,85	12,35	14,50	13,0
			8,85	0,80	12,14	15,18	13,0
17	3,7	82,5	54,34	0,80	8,84	11,01	11,5
			57,49	0,79	8,84	11,21	11,5
			41,44	0,78	8,74	11,23	11,5
			36,86	0,78	8,64	11,12	12,0
			33,48	0,76	8,93	11,68	12,0
18	3,7	87,5	21,92	0,85	8,80	10,35	10,5
			27,93	0,89	8,81	9,90	11,0
			15,39	0,87	8,80	10,13	11,0
			11,79	0,89	8,81	9,91	10,5
			9,29	0,90	8,81	9,77	10,5

Mistura	pH	Temperatura (°C)	Tempo de Retenção (s)	Acidez <sup>1</sup> (%)	Sólidos Solúveis <sup>2</sup> (° Brix)	Ratio <sup>3</sup>	Polpa (% v/v)
19	3,7	87,5	58,11	0,74	8,99	12,09	12,0
			49,07	0,70	9,18	13,09	11,0
			40,68	0,68	9,08	13,36	11,5
			33,67	0,70	8,98	12,79	11,5
			28,52	0,73	9,09	12,44	10,0
20	3,8	82,5	23,33	0,83	11,98	14,39	13,0
			19,62	0,87	11,98	13,79	14,0
			17,27	0,87	11,98	13,75	13,0
			14,58	0,87	11,98	13,80	13,0
			13,58	0,91	11,99	13,22	13,0
21	3,8	82,5	59,02	0,74	8,74	11,80	11,0
			48,63	0,75	8,84	11,86	11,0
			38,36	0,75	8,94	11,91	11,0
22	3,8	85,0	25,35	0,89	11,88	13,27	13,0
			22,04	0,91	11,88	13,07	12,0
			18,71	0,90	11,88	13,17	12,0
			15,99	0,83	11,97	14,41	11,0
			15,96	0,84	11,97	14,22	12,0
			11,82	0,91	12,08	13,23	12,0
			10,26	0,87	12,07	13,91	14,0
23	3,8	85,0	53,64	0,74	8,93	11,99	11,0
			44,03	0,74	9,03	12,14	11,0
			38,04	0,75	9,03	12,09	11,5
24	3,8	87,5	27,60	0,91	11,98	13,18	13,0
			23,00	0,94	11,99	12,72	12,5
			18,43	0,89	11,98	13,47	13,0
			15,48	0,90	11,98	13,29	12,0
			13,60	0,92	11,98	13,01	13,0
			12,08	0,89	11,98	13,53	13,0
25	3,8	87,5	51,38	0,75	9,23	12,37	11,0
			43,49	0,74	9,23	12,46	11,0
			37,65	0,75	9,23	12,36	11,0

Mistura	pH	Temperatura (°C)	Tempo de Retenção (s)	Acidez <sup>1</sup> (%)	Sólidos Solúveis <sup>2</sup> (° Brix)	Ratio <sup>3</sup>	Polpa (% v/v)
26	3,9	82,5	24,10	0,83	10,17	12,26	13,0
			19,09	0,82	10,36	12,63	13,0
			13,73	0,78	10,26	13,19	13,0
27	3,9	82,5	10,97	0,75	10,18	13,55	13,0
28	3,9	82,5	57,89	0,72	10,20	14,22	12,5
			43,24	0,77	9,97	12,88	13,0
			35,12	0,78	10,37	13,36	13,0
29	3,9	85,0	10,86	0,78	10,19	13,03	13,0
			13,22	0,78	10,19	13,11	13,0
			14,73	0,78	10,19	13,14	12,5
30	3,9	85,0	58,41	0,90	12,84	14,22	13,0
			50,65	0,87	12,83	14,80	11,5
			36,47	0,93	12,99	14,04	12,5
			31,79	0,89	12,99	14,55	12,5
31	3,9	87,5	16,86	0,70	11,32	16,28	12,0
			11,93	0,68	11,27	16,53	12,0
			9,62	0,69	11,27	16,33	10,0
32	3,9	87,5	102,11	0,81	13,47	16,68	12,0
			55,82	0,84	13,68	16,35	14,0
			47,65	0,85	13,43	15,71	10,0
			64,14	0,82	13,37	16,23	11,0
33	4,1	82,5	20,64	0,57	10,76	19,00	13,0
			14,94	0,55	10,86	19,63	12,5
			11,90	0,57	10,71	18,88	13,0
			9,70	0,56	10,71	19,00	13,0
			24,58	0,55	10,51	19,10	13,0
34	4,1	82,5	54,74	0,47	10,51	22,19	13,5
			60,63	0,50	10,91	21,97	13,5
			42,02	0,52	10,91	21,17	14,0
35	4,1	87,5	19,47	0,51	10,88	21,43	13,0
			14,08	0,54	10,89	20,29	13,5
			10,73	0,52	10,98	21,00	12,5

Mistura	pH	Temperatura (°C)	Tempo de Retenção (s)	Acidez <sup>1</sup> (%)	Sólidos Solúveis <sup>2</sup> (° Brix)	Ratio <sup>3</sup>	Polpa (% v/v)
36	4,1	87,5	52,62	0,66	12,54	18,94	13,0
			40,60	0,65	12,64	19,31	13,5
			31,37	0,65	12,74	19,74	12,5
			31,65	0,67	12,64	18,93	13,0
			26,60	0,66	12,74	19,29	13,0

<sup>1</sup>Acidez (%): acidez titulável expressa em porcentagem de ácido cítrico.

<sup>2</sup>Sólidos Solúveis (° Brix): valor corrigido para temperatura e acidez.

<sup>3</sup>Ratio: relação sólidos solúveis/acidez.

Foi aplicada análise estatística ANOVA *multifactor* para verificar a influência do pH da mistura, do tempo de retenção e da temperatura de pasteurização nas características físico-químicas do suco de laranja processado. Os resultados da ANOVA, confirmados pelo teste Tukey HSD ( $p < 0,05$ ), estão apresentados nas Tabelas 4.4, 4.5, 4.6 e 4.7.

Tabela 4.4 – Análise estatística (ANOVA) das características físico-químicas do suco de laranja pasteurizado em relação ao pH das misturas.

pH	3,6	3,7	3,8	3,9	4,0	4,1	DMS <sup>1</sup>
Acidez <sup>2</sup> (%)	0,89 <sup>a</sup>	0,82 <sup>b</sup>	0,83 <sup>a,b</sup>	0,80 <sup>b</sup>	0,59 <sup>c</sup>	0,53 <sup>d</sup>	0,06
Sólidos Solúveis <sup>3</sup> (° Brix)	9,94 <sup>a,b</sup>	9,76 <sup>a</sup>	11,05 <sup>c,d</sup>	11,58 <sup>d</sup>	10,17 <sup>a,b,c</sup>	10,81 <sup>b,c,d</sup>	0,98
Ratio <sup>4</sup>	11,25 <sup>a</sup>	12,03 <sup>a,b</sup>	13,16 <sup>b</sup>	14,46 <sup>c</sup>	17,23 <sup>d</sup>	20,44 <sup>e</sup>	1,30
Polpa (%)	11,70 <sup>a</sup>	11,78 <sup>a</sup>	11,67 <sup>a</sup>	12,07 <sup>a,b</sup>	14,25 <sup>b,c</sup>	13,20 <sup>c</sup>	1,26

Letras iguais não diferem estatisticamente

<sup>1</sup>DMS – Diferença Mínima Significativa ( $p < 0,05$ )

<sup>2</sup>Acidez (%): acidez titulável expressa em porcentagem de ácido cítrico.

<sup>3</sup>Sólidos Solúveis (° Brix): valor corrigido para temperatura e acidez.

<sup>4</sup>Ratio: relação sólidos solúveis/acidez.

Tabela 4.5 – Análise estatística (ANOVA) das características físico-químicas do suco de laranja pasteurizado, nas temperaturas de processamento.

Temperatura (°C)	82,5	85,0	87,5	DMS <sup>1</sup>
Acidez <sup>2</sup> (%)	0,74 <sup>a</sup>	0,73 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,03
Sólidos Solúveis <sup>3</sup> (° Brix)	10,34 <sup>a</sup>	10,45 <sup>a,b</sup>	10,87 <sup>b</sup>	0,53
Ratio <sup>4</sup>	14,55 <sup>a</sup>	15,05 <sup>a</sup>	14,67 <sup>a</sup>	0,71
Polpa (%)	12,24 <sup>a</sup>	12,87 <sup>a</sup>	12,21 <sup>a</sup>	0,69

Letras iguais não diferem estatisticamente

<sup>1</sup>DMS – Diferença Mínima Significativa ( p<0,05)

<sup>2</sup>Acidez (%): acidez titulável expressa em porcentagem de ácido cítrico.

<sup>3</sup>Sólidos Solúveis (° Brix): valor corrigido para temperatura e acidez.

<sup>4</sup>Ratio: relação sólidos solúveis/acidez.

Tabela 4.6 – Análise estatística (ANOVA) das características físico-químicas do suco de laranja pasteurizado, nos tempos de retenção.

Tempo de retenção (s)	0	0<t<25	25<t<45	>50	DMS <sup>1</sup>
Acidez <sup>2</sup> (%)	0,75 <sup>a,b</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,72 <sup>b</sup>	0,72 <sup>b</sup>	0,04
Sólidos Solúveis <sup>3</sup> (° Brix)	10,37 <sup>a</sup>	10,73 <sup>a</sup>	10,28 <sup>a</sup>	10,22 <sup>a</sup>	0,74
Ratio <sup>4</sup>	14,40 <sup>a</sup>	14,50 <sup>a</sup>	14,80 <sup>a</sup>	14,88 <sup>a</sup>	2,21
Polpa (%)	13,65 <sup>a</sup>	13,03 <sup>a,b</sup>	12,67 <sup>b</sup>	12,32 <sup>b</sup>	0,99

Letras iguais não diferem estatisticamente

<sup>1</sup>DMS – Diferença Mínima Significativa ( p<0,05)

<sup>2</sup>Acidez (%): acidez titulável expressa em porcentagem de ácido cítrico.

<sup>3</sup>Sólidos Solúveis (° Brix): valor corrigido para temperatura e acidez.

<sup>4</sup>Ratio: relação sólidos solúveis/acidez.

Tabela 4.7 – Análise estatística (ANOVA) das características físico-químicas do suco de laranja pasteurizado em relação ao mês de aquisição e processamento das frutas.

Mês	Final da safra		Início (pico) da Safra		DMS <sup>1</sup>
	março	junho	setembro	outubro	
<b>Acidez<sup>2</sup> (%)</b>	0,51 <sup>a</sup>	0,69 <sup>b</sup>	0,72 <sup>b</sup>	0,83 <sup>c</sup>	0,09
<b>Sólidos Solúveis<sup>3</sup> (° Brix)</b>	9,82 <sup>a</sup>	10,08 <sup>a</sup>	10,89 <sup>b</sup>	10,55 <sup>a,b</sup>	0,96
<b>Ratio<sup>4</sup></b>	19,48 <sup>a</sup>	14,54 <sup>c</sup>	16,30 <sup>b</sup>	12,76 <sup>d</sup>	2,11
<b>Polpa (%)</b>	14,19 <sup>a</sup>	14,57 <sup>a</sup>	12,80 <sup>b</sup>	11,90 <sup>c</sup>	1,12

Letras iguais não diferem estatisticamente

<sup>1</sup>DMS – Diferença Mínima Significativa (  $p < 0,05$ )

<sup>2</sup>Acidez (%): acidez titulável expressa em porcentagem de ácido cítrico.

<sup>3</sup>Sólidos Solúveis (° Brix): valor corrigido para temperatura e acidez.

<sup>4</sup>Ratio: relação sólidos solúveis/acidez.

A análise da variância mostrou que a acidez variou com o pH, o tempo de retenção e o mês de aquisição, de forma significativa ( $p < 0,05$ ), confirmado pelo teste Tukey HSD. A acidez foi maior nos valores de pH menores (3,6 a 3,9), nos tempos de retenção abaixo de 20 segundos e nas laranjas adquiridas e processadas em outubro.

A variação dos sólidos solúveis só apresentou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em relação à época de aquisição, tendo apresentado valores maiores nas frutas adquiridas no pico da safra, nos meses de setembro e outubro.

As misturas de pHs mais altos apresentaram maiores valores de *ratio*, conforme havia sido observado no suco não processado (Figuras 4.1 e 4.2). A análise estatística do *ratio* indicou que este é significativamente diferente entre todos os valores de pH analisados, exceto entre o par de pHs 3,6 e 3,7, e 3,7 e 3,8. A análise da variância, segundo o teste ANOVA, mostrou que o *ratio* variou com o pH e o mês de aquisição de forma significativa ( $p < 0,05$ ), confirmado pelo resultado do teste Tukey HSD.

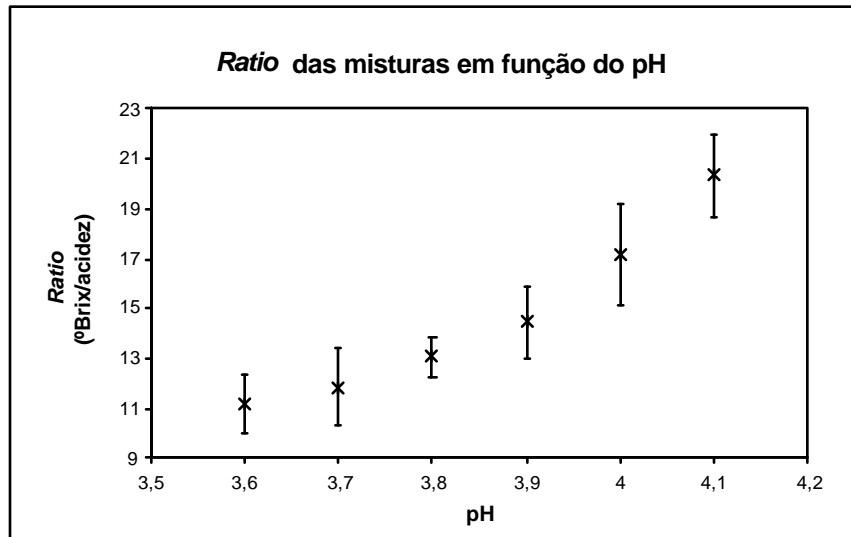


Figura 4.2 – Variação do *ratio* em função do pH das misturas de suco de laranja processado.

A variação do teor de polpa do suco processado apresentou diferença significativa em relação aos pHs, intervalos de tempo de retenção e mês de aquisição, segundo o teste Tukey HSD. O teor de polpa apresentou uma tendência de aumento para valores maiores de pH e laranjas adquiridas no final da safra o que pode estar relacionado ao maior amadurecimento das frutas, que promove um suco mais “encorpado” do que as laranjas verdes de pHs mais baixos.

Foram encontrados valores significativamente menores do teor de polpa nos sucos processados em tempos de retenção maiores se comparados aos tempos de retenção menores. Possivelmente esta diferença ocorreu devido à menor vazão de suco e conseqüentemente menor velocidade média no canal entre placas do trocador, o que possibilitou uma maior retenção da polpa dentro do equipamento. O mesmo comportamento foi observado por Badolato (2000) e Della Torre (2003).

### 4.3. Características físico-químicas do suco de laranja natural processado submetido à análise sensorial.

Sucos de laranja com pHs 3,6 e 4,0 processados nas condições de processamento apresentadas no Quadro 3.1 foram analisados, sempre em duplicata, sob os aspectos físico-químicos: acidez titulável, sólidos solúveis, polpa no dia do processamento e em todos os dias de análise sensorial. O *ratio* foi obtido como a relação entre os sólidos solúveis, expressos em °Brix, e a acidez, expressa em porcentagem de ácido cítrico.

Em todo o período de análise sensorial foram analisados os sucos amostra e padrão, sendo estes, respectivamente o suco mantido no refrigerador e o suco mantido congelado conforme apresentado no Capítulo 3. Os resultados obtidos nas análises físico-químicas dos sucos de laranja amostra e padrão, submetidos à análise sensorial nos sucos com pHs 3,6 e 4,0 estão apresentados nas Tabelas 4.8, 4.9, 4.10 e 4.11, respectivamente.

Tabela 4.8 – Valores médios de acidez titulável (% ácido cítrico), *ratio*, teor de sólidos solúveis (% Brix) e polpa (% v/v) do suco de laranja padrão com pH 3,6 no período de análise sensorial.

Período de Análise (dias)	Acidez <sup>1</sup> (%)	Sólidos Solúveis <sup>2</sup> (° Brix)	Ratio <sup>3</sup>	Polpa (% v/v)
1	1,01	11,40	11,27	11,5
5	1,05	11,20	10,69	11,5
8	1,12	11,20	10,00	9,5
12	0,99	11,20	11,31	11,0
15	1,09	11,00	10,07	10,0
19	0,99	11,00	11,11	11,5
22	0,99	11,00	11,1	11,5
26	1,02	11,20	10,98	11,5

<sup>1</sup>Acidez (%): acidez titulável expressa em porcentagem de ácido cítrico.

<sup>2</sup>Sólidos Solúveis (° Brix): valor corrigido para temperatura e acidez.

<sup>3</sup>Ratio: relação sólidos solúveis/acidez.



Tabela 4.9 – Valores médios de acidez titulável (% ácido cítrico), *ratio*, teor de sólidos solúveis (% Brix) e polpa (% v/v) do suco de laranja amostra com pH 3,6 no período de análise sensorial.

<b>Período de Análise (dias)</b>	<b>Acidez<sup>1</sup> (%)</b>	<b>Sólidos Solúveis<sup>2</sup> (° Brix)</b>	<b>Ratio<sup>3</sup></b>	<b>Polpa (% v/v)</b>
1	1,01	11,40	11,28	11,50
5	1,02	11,00	10,78	11,50
8	1,10	11,00	10,00	9,50
12	1,03	11,20	10,87	10,50
15	0,98	11,00	11,22	11,00
19	0,90	11,00	12,22	10,00
22	1,14	11,20	9,82	11,00
26	1,20	11,20	9,33	11,00

<sup>1</sup>Acidez (%): acidez titulável expressa em porcentagem de ácido cítrico.

<sup>2</sup>Sólidos Solúveis (° Brix): valor corrigido para temperatura e acidez.

<sup>3</sup>*Ratio*: relação sólidos solúveis/acidez.

Tabela 4.10 – Valores médios de acidez titulável (% ácido cítrico), *ratio*, teor de sólidos solúveis (% Brix) e polpa (% v/v) do suco de laranja padrão com pH 4,0 no período de análise sensorial.

<b>Período de Análise (dias)</b>	<b>Acidez<sup>1</sup> (%)</b>	<b>Sólidos Solúveis<sup>2</sup> (° Brix)</b>	<b>Ratio<sup>3</sup></b>	<b>Polpa (% v/v)</b>
2	0,66	12,20	18,48	13,50
6	0,69	12,00	17,39	12,00
9	0,63	11,80	18,73	10,00
13	0,69	11,80	17,10	12,50
16	0,64	11,80	18,44	10,00
20	0,70	11,00	15,71	13,00
23	0,80	11,60	14,50	11,50

<b>Período de Análise (dias)</b>	<b>Acidez<sup>1</sup> (%)</b>	<b>Sólidos Solúveis<sup>2</sup> (° Brix)</b>	<b>Ratio<sup>3</sup></b>	<b>Polpa (% v/v)</b>
27	0,79	11,60	14,68	11,00
30	0,74	11,60	15,68	13,00

<sup>1</sup>Acidez (%): acidez titulável expressa em porcentagem de ácido cítrico.

<sup>2</sup>Sólidos Solúveis (° Brix): valor corrigido para temperatura e acidez.

<sup>3</sup>Ratio: relação sólidos solúveis/acidez.

Tabela 4.11 – Valores médios de acidez titulável (% ácido cítrico), *ratio*, teor de sólidos solúveis (% Brix) e polpa (% v/v) do suco de laranja amostra com pH 4,0 no período de análise sensorial.

<b>Período de Análise (dias)</b>	<b>Acidez<sup>1</sup> (%)</b>	<b>Sólidos Solúveis<sup>2</sup> (° Brix)</b>	<b>Ratio<sup>3</sup></b>	<b>Polpa (% v/v)</b>
2	0,68	12,20	17,94	12,00
6	0,67	11,80	17,61	13,00
9	0,73	12,80	17,53	7,00
13	0,64	11,00	17,19	11,00
16	0,67	11,00	16,42	10,00
20	0,70	12,00	17,14	12,00
23	0,75	11,60	15,47	10,50
27	0,77	11,80	15,32	11,00
30	0,69	11,60	16,81	10,50

<sup>1</sup>Acidez (%): acidez titulável expressa em porcentagem de ácido cítrico.

<sup>2</sup>Sólidos Solúveis (° Brix): valor corrigido para temperatura e acidez.

<sup>3</sup>Ratio: relação sólidos solúveis/acidez.

A análise estatística foi aplicada para verificar as variações dos parâmetros físico-químicos do suco de laranja no decorrer do período de análise, não tendo sido detectada variação significativa para significância  $p < 0,05$ .

#### 4.4 O efeito do pH e da pasteurização em diferentes temperaturas na inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja.

As misturas de suco de laranja com pHs 3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0 e 4,1, tratados termicamente às temperaturas de 82,5 °C, 85,0 °C e 87,5 °C, tiveram a análise da atividade residual de pectinesterase determinada de acordo com os tempos de retenção.

Foram obtidos valores de atividade residual de forma a possibilitar a obtenção de cinéticas de inativação para cada combinação de pH e temperatura de processamento com no mínimo seis pontos (tempos de retenção). Na Tabela 4.12 são apresentados os valores de atividade (PEU/g°Brix) e atividade residual (PEU/PEU<sub>0</sub>) da enzima pectinesterase nos tratamentos térmicos aos quais as 36 misturas de suco de laranja com pHs controlados foram submetidas.

Tabela 4.12 - Atividade da pectinesterase nas misturas de suco de laranja em função do pH da mistura e das condições de processo.

Mistura	pH	Temperatura (°C)	Tempo de Retenção (s)	PEU <sup>1</sup> (PEU/g°Brix)	PEU/PEU <sub>0</sub> <sup>2</sup>
1	4,0	n.p.	-	2,745 E-04	1
			-	2,716 E-04	1
		85,0	25,66	3,846 E-06	1,408 E-02
				2,157 E-06	7,899 E-03
			32,96	2,399 E-06	8,784 E-03
				1,649 E-06	6,038 E-03
			13,87	6,093 E-06	2,231 E-02
				4,832 E-06	1,769 E-02
			11,30	1,057 E-05	3,870 E-02
				9,343 E-06	3,421 E-02
17,94	4,840 E-06	1,772 E-02			
		5,129 E-06	1,878 E-02		
2	4,0	n.p.	-	3,498 E-04	1
			-	2,926 E-06	8,367 E-02
		85,0	52,33	3,545 E-06	1,013 E-02

Mistura	pH	Temperatura (°C)	Tempo de Retenção (s)	PEU <sup>1</sup> (PEU/g°Brix)	PEU/PEU <sub>0</sub> <sup>2</sup>
3	4,1	n.p.	-	2,700 E-04	1
				2,422 E-04	1
		85,0	22,67	3,663 E-06	1,430 E-02
				2,740 E-06	1,069 E-02
			11,91	7,653 E-06	2,988 E-02
				8,331 E-06	3,252 E-02
4	4,1	n.p.	-	3,190 E-04	1
				4,046 E-06	1,268 E-02
		85,0	41,52	4,779 E-06	1,497 E-02
			54,25	4,370 E-06	1,370 E-02
			31,70	8,253 E-06	2,587 E-02
				4,528 E-06	1,419 E-02
			24,63	7,455 E-06	2,337 E-02
				7,001 E-06	2,194 E-02
			36,35	2,116 E-06	6,632 E-03
				3,651 E-06	1,145 E-02
5	3,6	n. p.	-	3,570 E-04	1
				3,493 E-04	1
		85,0	13,70	4,375 E-07	1,234 E-03
			17,38	1,369 E-07	3,878 E-04
			18,30	1,706 E-07	4,831 E-04
				1,251 E-07	3,541 E-04
6	3,6	n.p.	-	4,276 E-04	1
				3,789 E-04	1
		85,0	52,28	1,581 E-07	3,919 E-04
				1,619 E-08	4,015 E-05
			32,73	7,795 E-08	1,933 E-04
			60,75	3,683 E-08	9,134 E-05
	3,106 E-08	7,703 E-05			
7	4,0	n.p.	-	3,622 E-04	1
				3,242 E-04	1
		82,5	52,84	8,248 E-06	2,403 E-02
				8,081 E-06	2,355 E-02
8	3,7	n. p.	-	3,602 E-04	1
				3,727 E-04	1
		85,0	29,83	2,386 E-07	6,512 E-04
				1,131 E-09	3,085 E-04

Mistura	pH	Temperatura (°C)	Tempo de Retenção (s)	PEU <sup>1</sup> (PEU/g°Brix)	PEU/PEU <sub>0</sub> <sup>2</sup>			
8	3,7	85,0	23,31	1,960 E-07 1,097 E-07	5,348 E-04 2,994 E-04			
			16,57	5,866 E-07 9,052 E07	1,601 E-03 2,470 E-03			
			15,57	1,158 E-07 1,245 E-07	3,161 E-04 3,396 E-04			
			13,83	2,204 E-07 1,900 E-07	6,015 E-04 5,184 E-04			
			8,65	1,544 E-06 1,075 E-06	4,213 E-03 2,934 E-03			
			10	4,0	n.p.	-	4,056 E-04 3,297 E-04	1 1
						13,90	1,201 E-05 1,370 E-05	3,268 E-02 3,726 E-02
					82,5	11,58	1,653 E-05 1,571 E-05	4,497 E-02 4,272 E-02
29,64	9,279 E-06 1,106 E-05	2,524 E-02 3,007 E-02						
10	4,0	87,5				14,34	7,872 E-07 1,172 E-06	2,141 E-03 3,189 E-03
						11,78	2,141 E-06 1,996 E-06	5,824 E-03 5,430 E-03
			11	4,0	n.p.	-	3,406 E-04 2,700 E-04	1 1
18,31	1,007 E-06 1,423 E-06	3,230 E-03 4,660 E-03						
87,5	24,23	1,027 E-06 1,000 E-06			3,363 E-03 3,277 E-03			
	11	4,0			n. p.	-	3,163 E-04 3,504 E-04	1 1
						64,40	5,463 E-06 5,165 E-06	1,639 E-02 1,549 E-02
12	3,6	n.p	-	4,863 E-04	1			
			21,07	1,829 E-06 3,262 E-06	3,762 E-03 6,708 E-03			
		82,5	15,23	6,767 E-06	1,392 E-02			

Mistura	pH	Temperatura (°C)	Tempo de Retenção (s)	PEU <sup>1</sup> (PEU/g°Brix)	PEU/PEU <sub>0</sub> <sup>2</sup>		
12	3,6	82,5	11,09	1,039 E-05 6,706 E-06	2,137 E-02 1,379 E-02		
13	3,6	n. p.	-	4,240 E-04 4,073 E-04	1 1		
			82,5	59,68	8,625 E-06 4,365 E-06	2,075 E-02 1,050 E-02	
		53,59		4,242 E-06	1,021 E-02		
		42,59		1,136 E-05 1,221 E-05	2,732 E-02 2,937 E-02		
		14	3,6	n. p.	-	2,868 E-04 2,516 E-04	1 1
87,5	17,38				8,180 E-07 1,156 E-06	3,039 E-03 4,295 E-03	
	15,09			1,634 E-06 1,565 E-06	6,071 E-03 5,814 E-03		
	13,13			4,509 E-07 1,499 E-06	1,675 E-03 5,570 E-03		
	15			3,6	n.p.	-	4,888 E-04 4,722 E-04
87,5						70,11	1,361 E-06 2,140 E-06
		47,42	1,752 E-06 1,178 E-06		3,647 E-03 2,452 E-03		
		32,63	1,165 E-06 9,399 E-07		2,424 E-03 1,956 E-03		
16		3,7	n. p.		-	2,576 E-04 2,653 E-04	1 1
	82,5			15,08	1,663 E-08 3,965 E-09	6,362 E-05 1,516 E-05	
			12,70	8,838 E-07 5,096 E-06	3,380 E-03 1,949 E-02		
			11,12	9,209 E-06 1,011 E-06	3,522 E-02 3,867 E-03		
			8,85	1,114 E-06 8,757 E-07	4,261 E-03 3,349 E-03		

Mistura	pH	Temperatura (°C)	Tempo de Retenção (s)	PEU <sup>1</sup> (PEU/g°Brix)	PEU/PEU <sub>0</sub> <sup>2</sup>
17	3,7	n.p.	-	4,223 E-04	1
				4,287 E-04	1
		82,5	54,34	1,521 E-05	3,574 E-02
				1,197 E-05	2,814 E-02
			57,49	9,255 E-06	2,175 E-02
				9,250 E-06	2,174 E-02
			41,44	1,459 E-05	3,428 E-02
				1,924 E-05	4,522 E-02
	33,48	1,771 E-05	4,162 E-02		
		2,569 E-05	6,037 E-02		
18	3,7	n.p.	-	4,657 E-04	1
				5,013 E-04	1
		87,5	21,92	3,408 E-07	7,049 E-04
				6,187 E-07	1,280 E-03
			15,39	6,871 E-07	1,421 E-03
				1,222 E-06	2,526 E-03
			9,26	9,772 E-07	2,021 E-03
19	3,7	n.p.	-	3,902E-04	1
				4,004E-04	1
		87,5	58,11	6,858E-07	1,735E-03
				7,955E-07	2,012E-03
			40,68	9,959E-08	2,520E-04
				1,205E-07	3,049E-04
			28,52	2,922E-07	7,392E-04
		1,593E-07	4,031E-04		
20	3,8	n. p.	-	4,860 E-04	1
				4,911 E-04	1
		82,5	23,33	3,804 E-05	7,786 E-02
				3,467 E-05	7,097 E-02
			19,62	4,274 E-05	8,750 E-02
				5,165 E-05	1,057 E-01
			14,58	4,431 E-05	9,069 E-02
				2,526 E-05	5,171 E-02
			13,58	5,475 E-05	1,121 E-01
		4,164 E-05	8,523 E-02		

Mistura	pH	Temperatura (°C)	Tempo de Retenção (s)	PEU <sup>1</sup> (PEU/g°Brix)	PEU/PEU <sub>0</sub> <sup>2</sup>
21	3,8	n.p.	-	5,295 E-04	1
				4,019 E-04	1
		82,5	59,02	2,842 E-05	5,817 E-02
				1,996 E-05	4,087 E-02
			48,63	4,648 E-05	9,515 E-02
				4,498 E-05	9,207 E-02
38,36	5,861 E-05	1,200 E-01			
	4,966 E-05	1,016 E-01			
22	3,8	n.p.	-	2,893 E-04	1
				3,188 E-04	1
		85,0	18,71	4,400 E-06	1,447 E-02
				8,020 E-06	2,638 E-02
			15,96	1,206 E-05	3,967 E-02
				1,028 E-05	3,380 E-02
10,26	2,063 E-05	6,787 E-02			
	2,255 E-05	7,415 E-02			
23	3,8	n.p.	-	3,542 E-04	1
				2,865 E-04	1
		85,0	53,64	1,813 E-06	5,961 E-03
				2,722 E-06	8,952 E-03
			44,03	7,376 E-06	2,426 E-02
				2,398 E-05	7,887 E-02
38,04	9,859 E-06	3,243 E-02			
24	3,8	n. p.	-	2,948 E-04	1
				2,905 E-04	1
		87,5	15,48	8,179 E-06	2,795 E-02
				7,009 E-06	2,395 E-02
			13,60	8,363 E-06	2,858 E-02
				5,832 E-06	1,993 E-02
12,08	1,027 E-05	3,512 E-02			
	9,141 E-06	3,124 E-02			
25	3,8	n.p.	-	5,001 E-04	1
				4,830 E-04	1
		87,5	51,38	3,373 E-06	6,863 E-03
				2,987 E-06	6,078 E-03
			43,49	3,400 E-06	6,917 E-03
				3,236 E-06	6,583 E-03



Mistura	pH	Temperatura (°C)	Tempo de Retenção (s)	PEU <sup>1</sup> (PEU/g°Brix)	PEU/PEU <sub>0</sub> <sup>2</sup>		
25	3,8	87,5	37,65	2,518 E-06 3,070 E-06	5,122 E-03 6,246 E-03		
26	3,9	n. p.	-	2,031 E-04 3,225 E-04	1 1		
			82,5	24,10	6,862 E-06 8,622 E-06	2,611 E-02 3,281 E-02	
		19,09		7,969 E-06 1,487 E-05	3,033 E-02 5,659 E-02		
		13,73		1,813 E-05 2,529 E-05	6,900 E-02 9,626 E-02		
		27		3,9	n. p.	-	3,144 E-04 3,234 E-04
			82,5			10,97	7,786 E-06 8,159 E-06
28	3,9	n. p.	-	2,322 E-04 3,259 E-04	1 1		
			82,5	57,89	9,666 E-06 1,023 E-05	3,464 E-02 3,665 E-02	
		43,24		1,635 E-05 1,094 E-05	5,858 E-02 3,919 E-02		
		35,12		1,077 E-05 1,557 E-05	3,858 E-02 5,578 E-02		
		29		3,9	n.p.	-	2,861 E-04 3,400 E-04
			85,0			10,86	1,177 E-05 9,651 E-06
13,22	7,915 E-06 7,371 E -06				2,528 E-02 2,355 E -02		
14,73	6,811 E-06 7,053 E-06				2,176 E-02 2,253 E-02		
30	3,9				n.p.	-	2,284 E-04 2,714 E-04
			85,0			58,41	3,071 E-06 4,000 E-06
		36,47		5,532 E-06 5,034 E-06	1,767 E-02 1,608 E-02		

Mistura	pH	Temperatura (°C)	Tempo de Retenção (s)	PEU <sup>1</sup> (PEU/g°Brix)	PEU/PEU <sub>0</sub> <sup>2</sup>
30	3,9	85,0	31,79	5,016 E-06 4,744 E-06	1,602 E-02 1,515 E-02
31	3,9	n.p.	-	2,881 E-04 2,771 E-04	1 1
			87,5	16,86	1,355 E-09 2,982 E-08
		11,93		1,002 E-06 2,215 E-06	3,545 E-03 7,836 E-03
		9,62		5,797 E-06 3,971 E-06	2,051 E-02 1,405 E-02
		32	3,9	n.p.	-
87,5	55,82				3,746 E-07 9,682 E-07
	47,65			1,813 E-06 9,937 E-07	7,151 E-03 3,918 E-03
	64,14			5,371 E-07 9,745 E-07	2,118 E-03 3,843 E-03
33	4,1			n.p.	-
		82,5	20,64		3,445 E-06 2,147 E-06
			14,94	8,117 E-06 1,000 E-05	3,194 E-02 3,936 E-02
			11,90	1,386 E-05 1,049 E-05	5,454 E-02 4,128 E-02
		9,70	1,352 E-05 1,398 E-05	5,322 E-02 5,502 E-02	
34	4,1	n.p.	-	2,160 E-04 2,572 E-04	1 1
			82,5	3,943 E-06 3,386 E-06	1,667 E-02 1,431 E-02
		2,109 E-06 2,174 E-06		8,916 E-03 9,188 E-03	
		9,793 E-06 9,261 E-06		4,139 E-02 3,914 E-02	

Mistura	pH	Temperatura (°C)	Tempo de Retenção (s)	PEU <sup>1</sup> (PEU/g °Brix)	PEU/PEU <sub>0</sub> <sup>2</sup>
35	4,1	n.p.	-	2,389 E-04	1
			-	2,459 E-04	1
		87,5	19,47	5,782 E-09	2,386 E-05
				1,445 E-09	5,964 E-06
			14,08	2,831 E-07	1,168 E-03
			10,73	2,802 E-07	1,156 E-03
	7,348 E-07	3,032 E-03			
	5,361 E-07	2,212 E-03			
36	4,1	n. p.	-	2,665 E-04	1
			-	2,755 E-04	1
		87,5	52,62	3,637 E-07	1,342 E-03
				1,969 E-08	7,267 E-05
			31,37	1,059 E-06	3,908 E-03
				1,058 E-06	3,904 E-03

<sup>1</sup> PEU – atividade da pectinesterase, expressa em unidades de pectinesterase por g e por teor de sólidos solúveis (° Brix) de suco de laranja.

<sup>2</sup> PEU/PEU<sub>0</sub> – atividade residual da pectinesterase, expressa como razão entre a atividade da enzima no suco de laranja processado e a atividade da enzima no suco de laranja não processado.

Os valores de inativação da PE obtidos para o suco de laranja não processado variaram entre  $2,031 \times 10^{-4}$  e  $4,276 \times 10^{-4}$  PEU/g °Brix, valores próximos aos encontrados por Rouse (1953) em suco de laranja não processado das variedades Valência e Pinapple, onde foram encontradas atividades de PE variando entre  $2 \times 10^{-4}$  e  $4 \times 10^{-4}$  PEU/g °Brix e por Badolato (2000), que encontrou valores de atividade de pectinesterase no suco de laranja não pasteurizado da variedade Pêra entre  $4,3 \times 10^{-4}$  e  $2,5 \times 10^{-3}$  PEU/mL °Brix, no período entre junho de 1999 e fevereiro de 2000.

#### 4.4.1. Cinética de inativação térmica da pectinesterase.

Os dados obtidos da razão da atividade residual da pectinesterase (PEU/PEU<sub>0</sub>) foram ajustados ao modelo multicomponente de cinética de 1ª ordem proposto por Chen; Wu (1998), para cada temperatura e pH estudado (Equação 2).

$$\frac{A}{A_0} = a \times \exp(-k_1 \times t) + (1 - a) \times \exp(-k_2 \times t) \quad (2)$$

onde A é a atividade da PE após a pasteurização (PEU/ g °Brix), A<sub>0</sub> é a atividade da

PE no suco não processado (PEU/g °Brix),  $a$  é a fração molar da isoenzima menos resistente,  $t$  é o tempo de retenção (s) e  $k_1$  e  $k_2$  são as constantes da cinética de inativação das isoenzimas menos e mais resistentes, respectivamente.

As cinéticas de inativação térmica da pectinesterase nos pHs 3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0 e 4,1; nas três temperaturas de processamento, estão apresentadas nas Figura 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7 e 4.8, respectivamente.

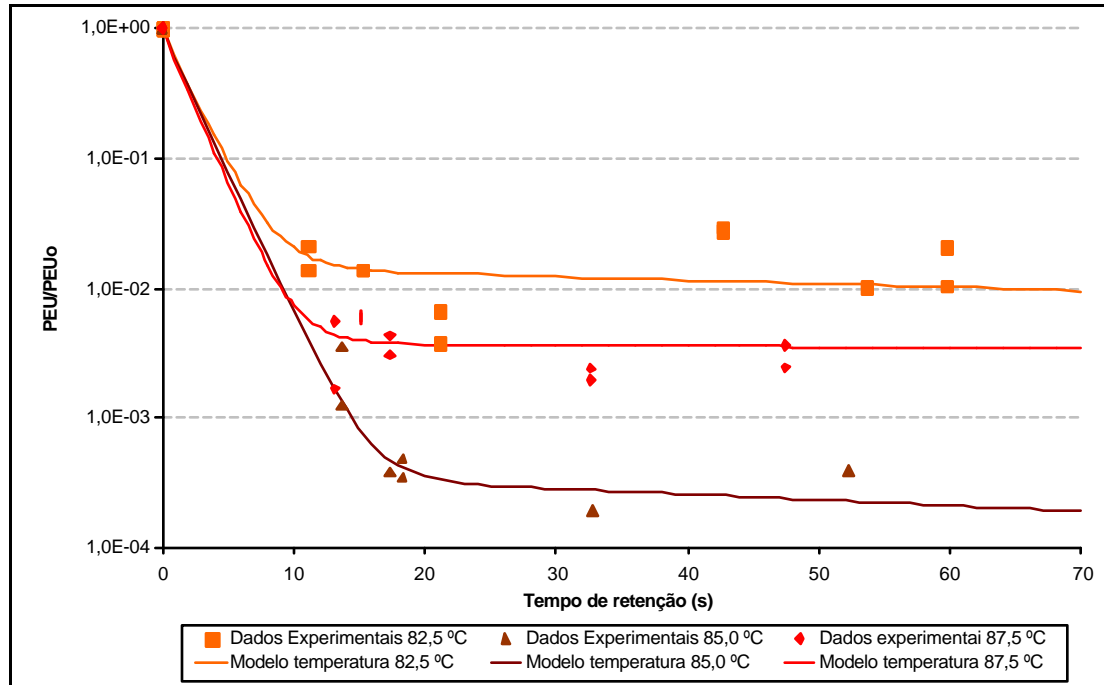


Figura 4.3 – Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja de pH 3,6, processado às temperaturas de 82,5; 85,0 e 87,5 °C.

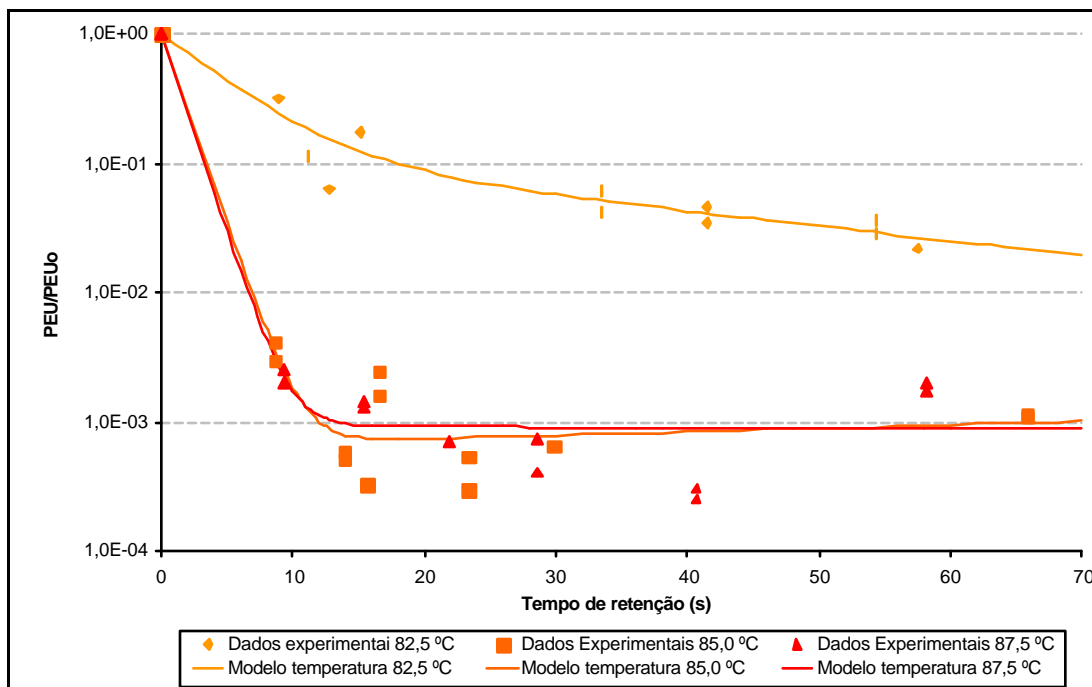


Figura 4.4 – Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja de pH 3,7, processado às temperaturas de 82,5; 85,0 e 87,5 °C.

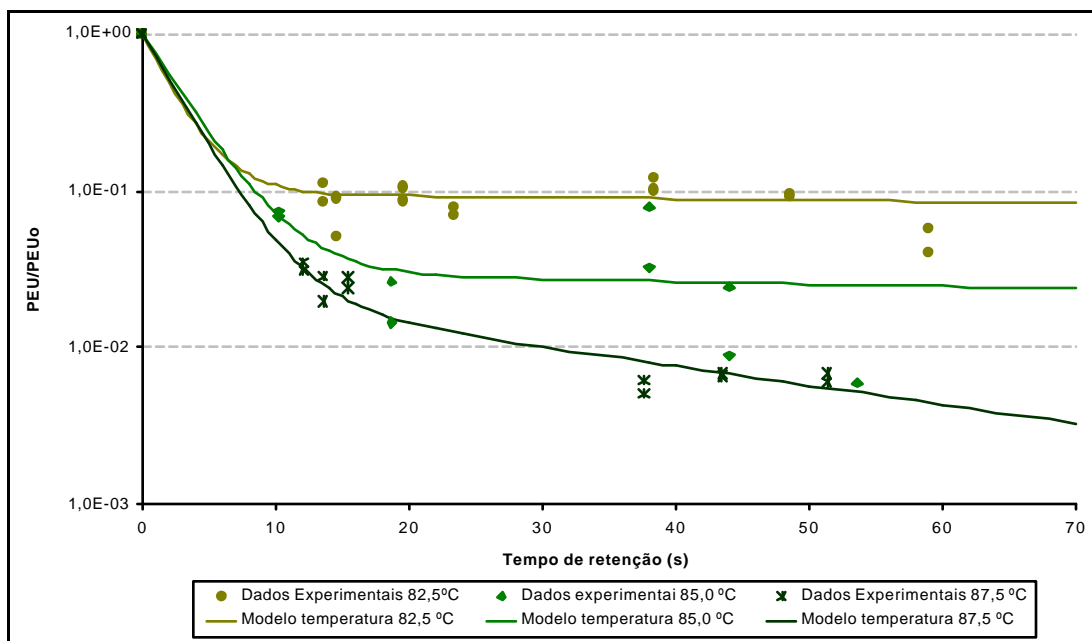


Figura 4.5 – Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja de pH 3,8, processado às temperaturas de 82,5; 85,0 e 87,5 °C.

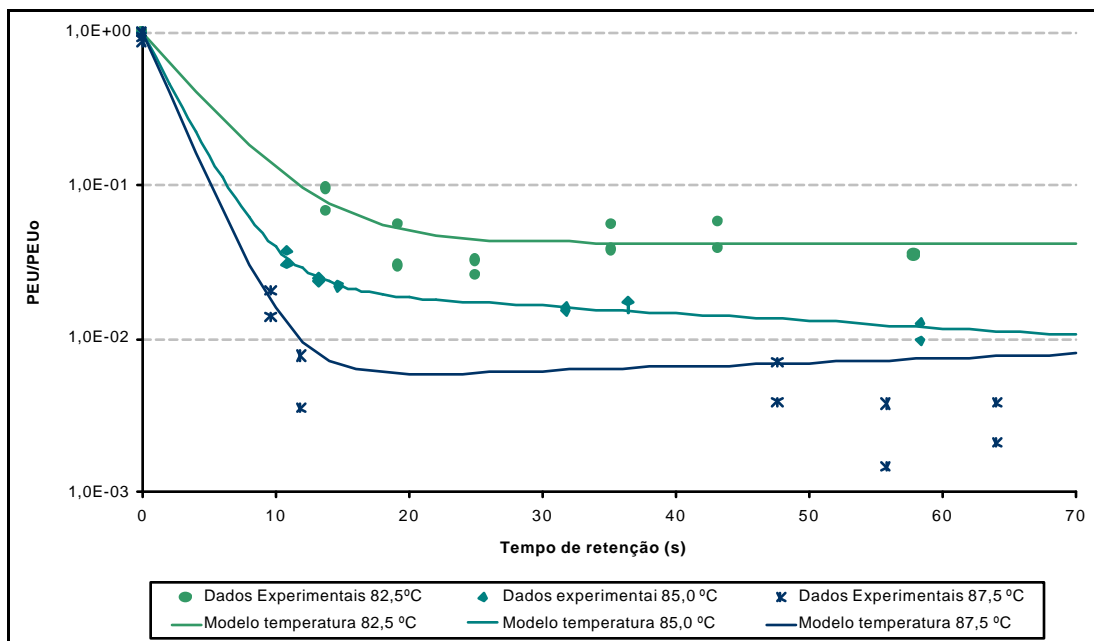


Figura 4.6 – Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja de pH 3,9, processado às temperaturas de 82,5; 85,0 e 87,5 °C.

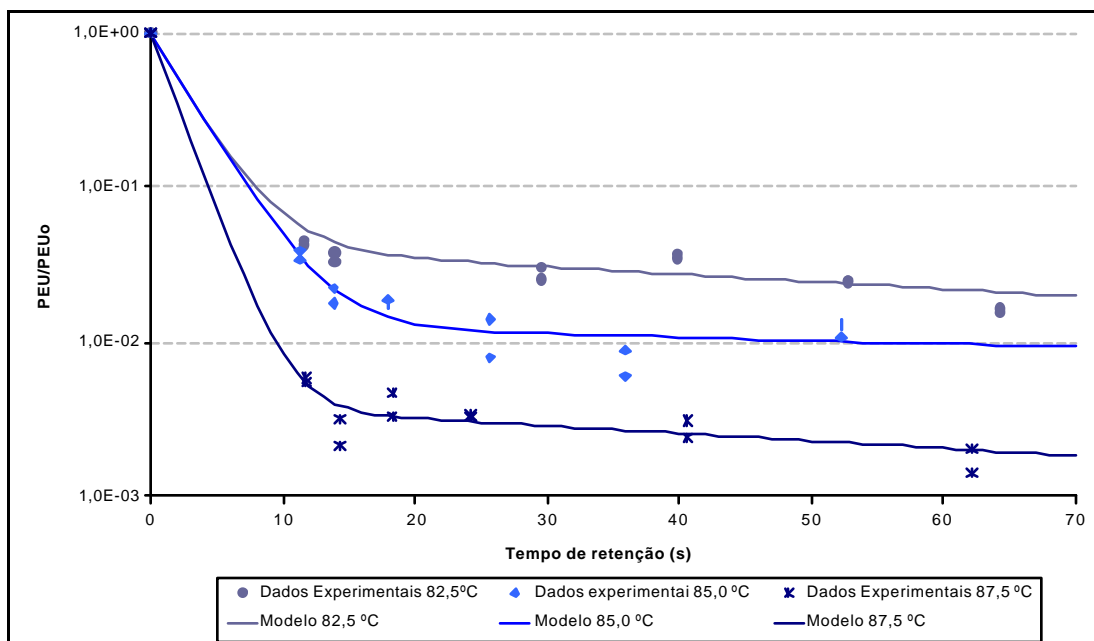


Figura 4.7 – Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja de pH 4,0, processado às temperaturas de 82,5; 85,0 e 87,5 °C.

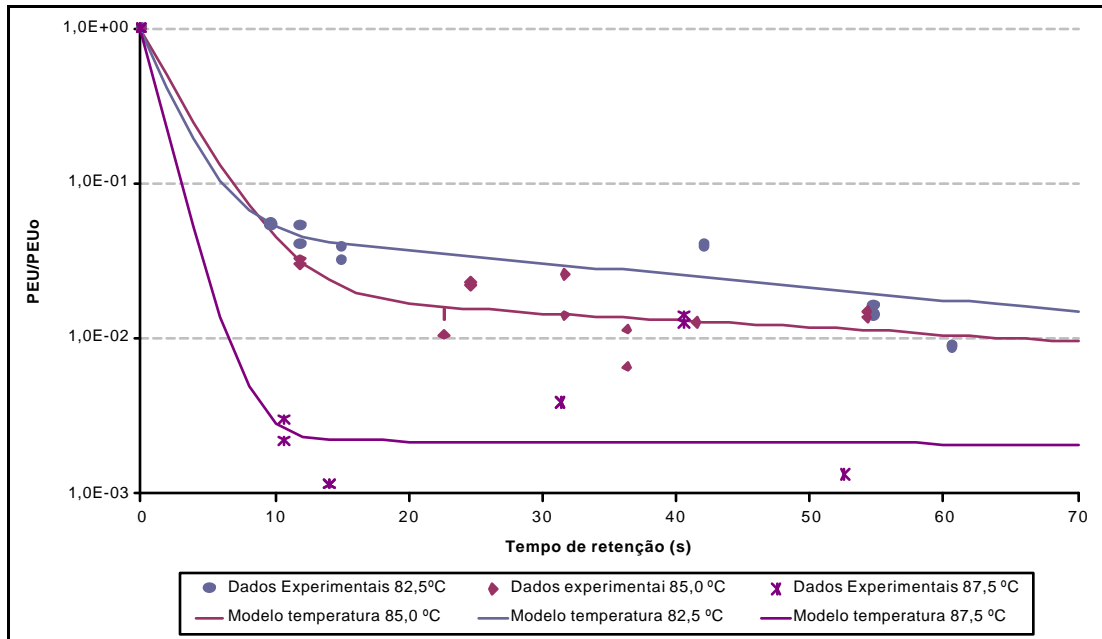


Figura 4.8 – Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja de pH 4,1, processado às temperaturas de 82,5; 85,0 e 87,5 °C.

Na Tabela 4.13 são apresentados os parâmetros obtidos por meio do ajuste dos pontos da cinética de inativação térmica da pectinesterase ao modelo multicomponente (Equação 2), nas misturas com pHs 3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0 e 4,1; processados às temperaturas de 82,5; 85,0 e 87,5 °C.

Tabela 4.13 – Parâmetros do modelo obtidos para o suco com pHs 3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0 e 4,1, pasteurizados a 82,5; 85,0 e 87,5 °C.

pH	Temperatura (°C)	$a^1$	$k_1^2$	$k_2^3$	$(R^2)^4$
3,6	82,5	0,985	0,501	0,006	1,000
	85,0	1,000	0,507	0,010	1,000
	87,5	0,996	0,560	0,002	1,000
3,7	82,5	0,944	0,182	0,010	0,986
	85,0	0,999	0,681	0,001	1,000
	87,5	0,999	0,711	0,001	1,000
3,8	82,5	0,904	0,414	0,002	0,998
	85,0	0,970	0,310	0,004	0,997
	87,5	0,977	0,343	0,028	1,000
3,9	82,5	0,957	0,238	0,001	0,999
	85,0	0,977	0,392	0,011	1,000
	87,5	0,995	0,458	0,006	1,000
4,0	82,5	0,958	0,452	0,011	1,000
	85,0	0,987	0,330	0,005	1,000
	87,5	0,996	0,537	0,011	1,000
4,1	82,5	0,947	0,471	0,018	1,000
	85,0	0,980	0,360	0,011	1,000
	87,5	0,998	0,742	0,001	1,000

<sup>1</sup>  $a$  - a fração molar da isoenzima menos resistente (adimensional).

<sup>2</sup>  $k_1$  - constante da cinética de inativação da isoenzima menos resistente (s<sup>-1</sup>).

<sup>3</sup>  $k_2$  - constante da cinética de inativação da isoenzima mais resistente (s<sup>-1</sup>).

<sup>4</sup>  $R^2$  - coeficiente de determinação

Em todos os pHs e temperaturas de processamento o ajuste dos dados de PEU/PEU<sub>0</sub> foram bastante adequados ao modelo multicomponente de 1<sup>a</sup> ordem, com valores de R<sup>2</sup> superiores a 0,986. Este fato sugere a existência de no mínimo duas frações da enzima pectinesterase com resistências térmicas diferentes, sendo que as frações da enzima menos e mais resistente correspondem às cinéticas da primeira e

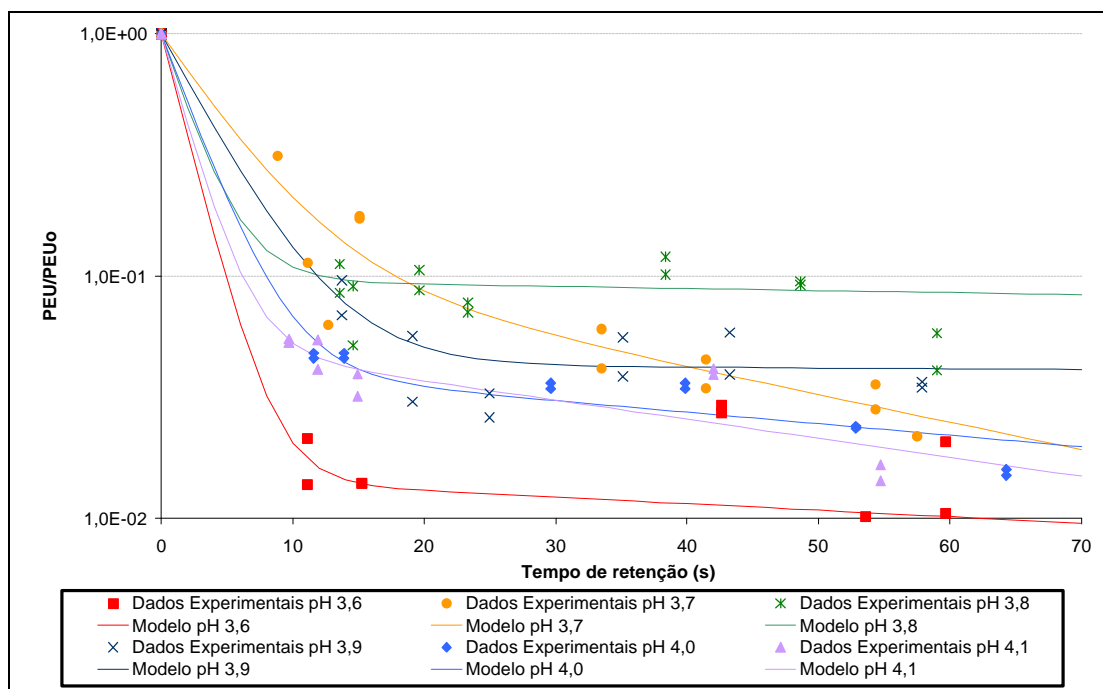


da segunda porção linear da curva, respectivamente. Cinéticas de inativação da PE com este comportamento foram descritas por Versteeg (1980) e Wicker; Tenelli (1988).

Nas curvas obtidas pode-se notar que o aumento da temperatura provocou uma maior e mais rápida inativação da PE em todos os pHs, com exceção do pH 3,6, à temperatura de 85,0 °C e pH 3,7, nas temperaturas de processamento de 85,0 e 87,5°C.

A temperatura de processamento 87,5 °C do suco com pH 3,7 provocou a inativação mais rápida, atingindo um nível de inativação superior a 99, 9% em menos de 15 segundos de processamento, porém o maior nível de inativação alcançado (cerca de 99,99%) ocorreu na temperatura de processamento de 85,0 °C e pH 3,6. Os sucos processados à temperatura de 82,5 °C não alcançaram 99% de inativação em tempos inferiores a 60 segundos em nenhum dos pHs analisados.

Os níveis de inativação alcançados variaram de acordo com o pH chegando à inativação de quase 4 ciclos logarítmicos no pH de 3,6 à 85 °C e inativações inferiores a 3 ciclos logarítmicos nos pHs 3,8; 3,9; 4,0 e 4,1. As Figuras 4.9, 4.10 e 4.11 apresentam as cinéticas de inativação da PE nos seis valores de pH, agrupados nas temperaturas de processamento de 82,5; 85,0 e 87,5 °C, respectivamente.



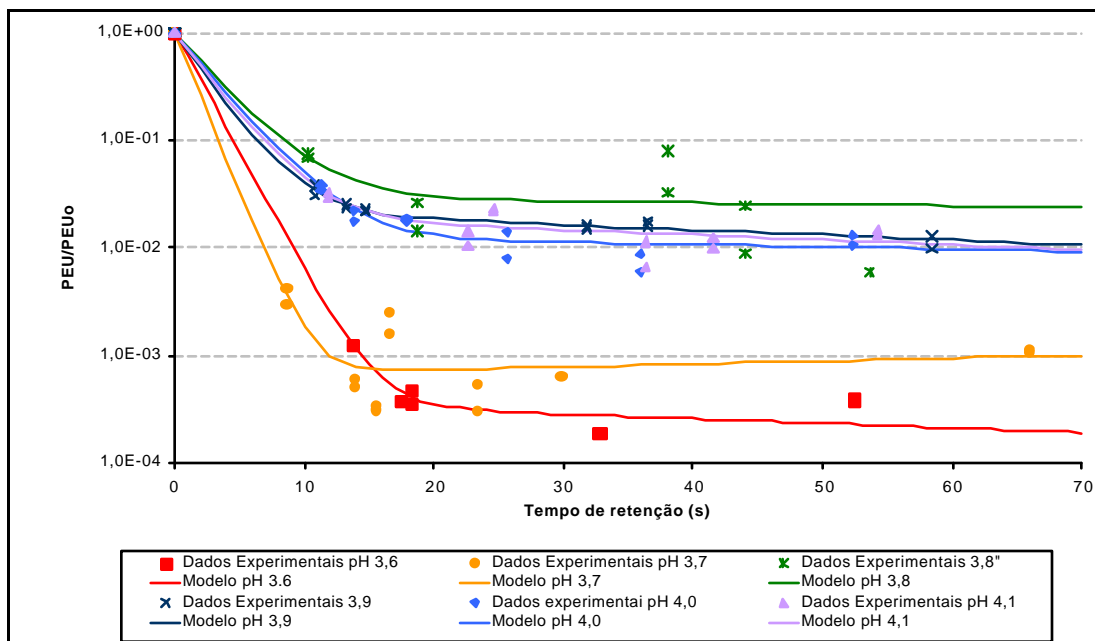


Figura 4.10 – Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja com pHs 3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0 e 4,1 processado à 85,0 °C.

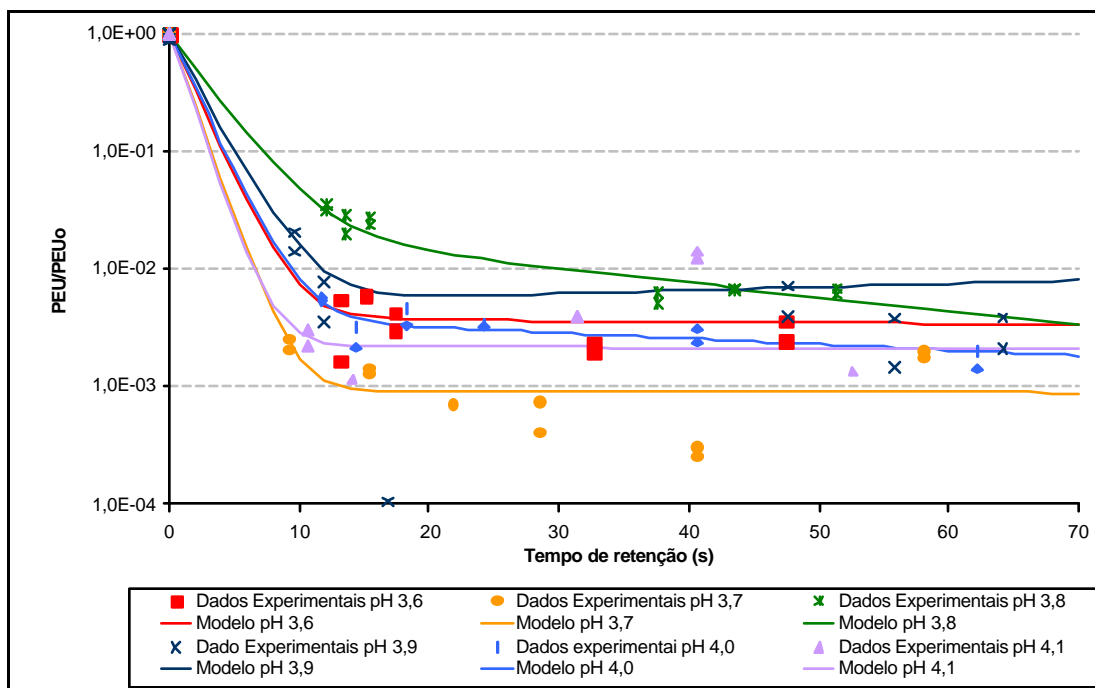


Figura 4.11 – Cinéticas de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja com pHs 3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0 e 4,1 processado à 87,5 °C.

Observando-se a variação do nível de inativação da enzima com o pH nas várias temperaturas de processamento, pode-se verificar uma menor e mais lenta inativação da PE no pH 3,8 em todas as temperaturas de processamento. No pH 3,9 a inativação enzimática ocorreu de forma semelhante ao observado no pH 3,8. No entanto, níveis máximos de inativação foram observados nos sucos com pHs 3,6 ou 3,7, dependendo do tempo de pasteurização empregado.

Dos dados da cinética obtida, é possível observar um ponto de inflexão na inativação térmica da pectinesterase em relação ao pH do suco de laranja. Na faixa de pH estudada, no pH 3,8 a taxa de inativação foi a menor obtida. Rouse; Atkins (1953), Körner; Zimmermann; Berk (1980) e Badolato (2000) também apresentaram o pH como influenciador da cinética enzimática.

Na análise dos parâmetros do modelo nos pHs apresentados na Tabela 4.13, pode-se verificar que as duas constantes de inativação  $k_1$  e  $k_2$  diferem fortemente e estão relacionadas aos grupos de isoformas mais e menos resistentes. Os valores de  $k_1$  são muito maiores do que os valores de  $k_2$  e representam a maior rapidez com a qual as isoenzimas menos resistentes são degradadas.

#### *4.4.2. Efeito do pH e da temperatura de pasteurização sobre os parâmetros da cinética de inativação térmica da pectinesterase.*

Foi aplicada análise estatística ANOVA *multifactor* para verificar a influência do pH da mistura e da temperatura de processamento sobre os parâmetros  $a$ ,  $k_1$  e  $k_2$  da cinética de inativação térmica da pectinesterase. Os resultados da ANOVA, confirmados pelo teste Tukey HSD ( $p < 0,05$ ), estão apresentados nas Tabelas 4.14 e 4.15.

Tabela 4.14 – Análise estatística (ANOVA) dos parâmetros da cinética de inativação térmica em relação ao pH das misturas.

pH	3,6	3,7	3,8	3,9	4,0	4,1	DMS <sup>1</sup>
<i>a</i>	0,994 <sup>a</sup>	0,981 <sup>a,b</sup>	0,961 <sup>b</sup>	0,976 <sup>a,b</sup>	0,980 <sup>a,b</sup>	0,975 <sup>a,b</sup>	0,031
<i>k</i> <sub>1</sub>	0,522 <sup>a,b</sup>	0,691 <sup>b</sup>	0,356 <sup>a</sup>	0,363 <sup>a</sup>	0,440 <sup>a</sup>	0,439 <sup>a,b</sup>	0,265
<i>k</i> <sub>2</sub>	0,0059 <sup>a</sup>	0,0036 <sup>a</sup>	0,0112 <sup>a</sup>	0,0059 <sup>a</sup>	0,0090 <sup>a</sup>	0,0099 <sup>a</sup>	0,024

Letras iguais não diferem estatisticamente

<sup>1</sup>DMS – Diferença Mínima Significativa (  $p < 0,05$  )

Tabela 4.15 – Análise estatística (ANOVA) dos parâmetros da cinética de inativação térmica em relação às temperaturas de processamento.

Temperatura (°C)	82,5	85,0	87,5	DMS <sup>1</sup>
<i>a</i>	0,955 <sup>a</sup>	0,985 <sup>b</sup>	0,993 <sup>b</sup>	0,016
<i>k</i> <sub>1</sub>	0,460 <sup>a</sup>	0,430 <sup>a</sup>	0,516 <sup>a</sup>	0,226
<i>k</i> <sub>2</sub>	0,0079 <sup>a</sup>	0,0067 <sup>a</sup>	0,0081 <sup>a</sup>	0,014

Letras iguais não diferem estatisticamente

<sup>1</sup>DMS – Diferença Mínima Significativa (  $p < 0,05$  )

O valor de *a* no pH 3,8 foi o menor encontrado, indicando que neste pH a fração da isoenzima mais resistente foi maior (média de 3,9%) e o valor da constante de velocidade *k*<sub>1</sub> também foi o menor, portanto neste pH há uma menor taxa de inativação da fração de enzima menos resistente.

Os valores da constante de velocidade *k*<sub>1</sub> da fração da enzima menos termoresistente variaram entre 0,182 e 0,742 s<sup>-1</sup> com uma tendência de diminuição com o aumento da temperatura, porém sem diferença significativa segundo a análise de variância ( $p < 0,05$ ). Em geral os valores de *k*<sub>1</sub> em cada pH foram muito próximos nas três temperaturas, com exceção de dois casos: pH 4,1/temperatura 87,5 °C e pH 3,7/temperatura 82,5 °C. O pH influenciou de forma significativa a variação da constante de velocidade *k*<sub>1</sub>, segundo a ANOVA realizada ( $p < 0,05$ ).

Os valores de *k*<sub>2</sub> da fração da enzima mais termoresistente variaram entre 0,001 e 0,028 s<sup>-1</sup>. A ANOVA indicou que a temperatura de pasteurização e o pH do

suco de laranja não influenciaram significativamente ( $p < 0,05$ ) os valores da constante de velocidade  $k_2$ .

Como pode ser observado na Tabela 4.13, as frações das isoformas menos e mais resistentes podem ser avaliadas pelos valores de  $a$  e  $1-a$ , respectivamente. Foram encontrados valores de  $a$  variando entre 0,904 e 1,000 o que corresponde a fração da isoforma menos resistente e implica na presença de até 9,6% da isoforma mais resistente. Estudos anteriores apresentam valores da proporção de isoformas mais resistentes da pectinesterase dentro desta variação, como os obtidos por Han; Nielsen; Nelson (1998) que reportaram como 1,5 % a proporção das isoformas mais resistentes e Versteeg (1980) e Cameron; Niedz; Grohmann (1994) que encontraram 5 % de isoformas mais resistentes nos sucos de laranja analisados.

A ANOVA aplicada nos valores do parâmetro  $a$  indicou que a temperatura de pasteurização influenciou a fração de isoformas que se mantém ativa após o processamento de forma significativa ( $p < 0,05$ ), sendo que quanto maior a temperatura de processamento, maior a fração de enzima menos resistente (Figura 4.13).

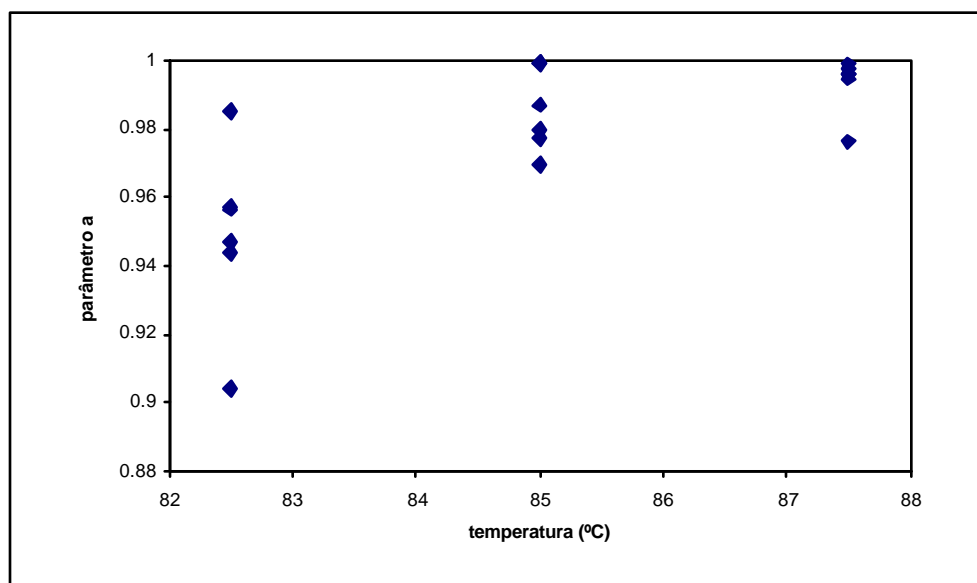


Figura 4.12 – Variação do parâmetro  $a$  com a temperatura de pasteurização.

A Figura 4.13 apresenta a variação do parâmetro  $a$  de acordo com o pH do suco. O pH influenciou significativamente a variação deste parâmetro e podem ser

observados pontos com menores valores de  $a$  no pH 3,8 em todas as temperaturas. Podem ser citados vários autores que apontam o pH, em valores extremos, como agente desnaturante de enzimas (REED, 1975; DIXON; WEBB, 1979; FOX, 1991). Sendo a atividade da enzima expressa como atividade residual, o efeito único do pH pode ser eliminado, pois teria ação também sobre o suco não processado, o que não foi observado. Pode-se inferir que o pH tenha alterado a estrutura da proteína de forma a torná-la mais susceptível à desnaturação decorrente da ação da temperatura.

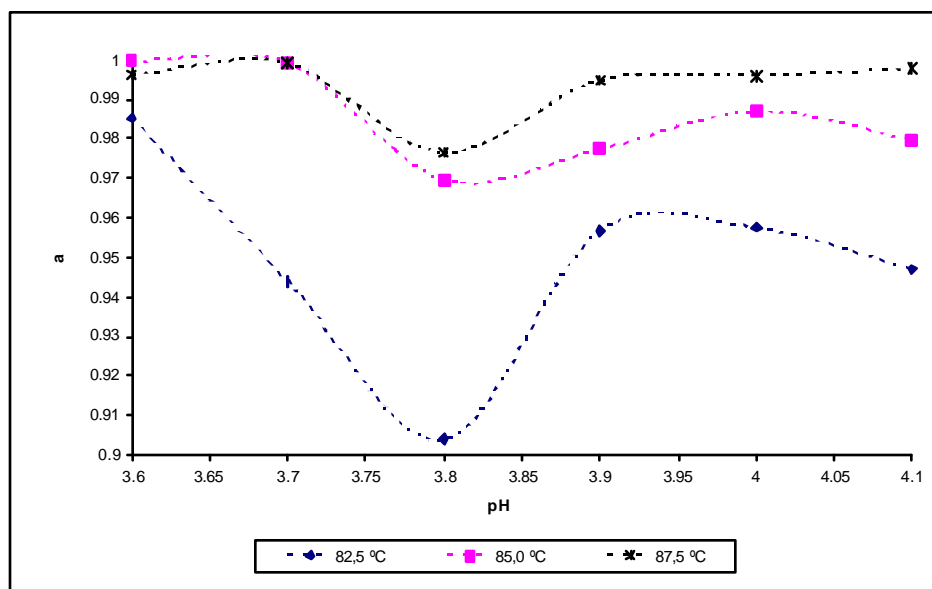


Figura 4.13 – Variação do parâmetro  $a$  com as três temperaturas de processamento.

Em todas as curvas de cinética apresentadas nas Figuras 4.9, 4.10 e 4.11, pode ser observada uma estabilização na taxa de inativação a partir do tempo de retenção de 20 segundos, sendo confirmado pelos baixos valores da constante de velocidade  $k_2$ , sugerindo que este tempo de retenção seja considerado como tempo de retenção máximo para pasteurização mínima, nas temperaturas empregadas neste trabalho.

A análise de regressão múltipla linear foi aplicada para os resultados obtidos dos parâmetros  $a$  e  $k_1$  e de acordo com o pH e temperatura de pasteurização empregados no processamento do suco de laranja. Como o parâmetro  $k_2$  não foi influenciado pelo pH e pela temperatura de processamento, análise de regressão múltipla não foi aplicada.

As estimativas dos coeficientes e a ANOVA do modelo estão apresentados nos Quadros 4.1 e 4.2, referentes à análise de regressão múltipla aplicada aos parâmetros  $a$  e  $k_1$ , respectivamente.

Quadro 4.1 - Estimativa dos coeficientes do polinômio de segundo grau ajustado para os valores do parâmetro  $a$ .

Parâmetro	Estimativa	Erro padrão	T estatística	P-Value	
Constante	-0,0315	5,4270	-0,0058	0,9955	
T	0,1334	0,1194	1,1172	0,0078	
pH	-2,5152	0,7581	-3,3180	0,2900	
T*T	-0,0011	0,0007	-1,6117	0,1381	
pH*pH	0,1565	0,0801	1,9552	0,0791	
T*pH	0,0150	0,0058	2,6027	0,0264	
$R^2 = 0,853214$		erro padrão da estimativa = 0,0080367			
<b>Análise de Variância</b>					
Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	P
Modelo	3,7543 E-03	5	7,5086 E-04	11,63	0,0007
Resíduo	6,4588 E-04	10	6,4588 E-05		
Total (corr.)	4,4002 E-03	15			

O Quadro 4.1 indica o ajuste adequado da regressão múltipla aplicada aos dados experimentais. A análise de variância indica que o modelo obtido é significativo. O parâmetro  $a$  do modelo cinético multicomponente de 1ª ordem é dependente do coeficiente linear da variável temperatura, do coeficiente quadrático da variável pH e da interação da variável temperatura e pH. Os coeficientes significativos apresentados no Quadro 4.1 geram o modelo:

$$a = (-0,0315 + 0,1335 \times T - 0,0011 \times \text{pH} + 0,0150 \times T \times \text{pH}) \pm 0,008 \quad (3)$$

$$82,5 \text{ °C} \leq T \leq 87,5 \text{ °C}$$

$$3,6 \leq \text{pH} \leq 4,1$$

Quadro 4.2 - Estimativa dos coeficientes do polinômio de segundo grau ajustado para os valores do parâmetro  $k_1$ .

Parâmetro	Estimativa	Erro padrão	T estatística	P-Value
Constante	160,58	63,476	2,5299	0,0280
T	-2,9082	1,4539	-2,0002	0,0708
pH	-19,655	7,2269	-2,7197	0,0199
T*T	0,01738	0,00855	2,0211	0,0683
pH*pH	2,5473	0,93900	2,7128	0,0202
T*pH	0,0150	0,0058	2,6027	0,0264
$R^2 = 0,61734$		erro padrão da estimativa = 0,00988448		

#### Análise de Variância

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	P
Modelo	0,173385	4	0,0433462	4,44	0,0223
Resíduo	0,107473	11	0,0097703		
Total (corr.)	0,280858	15			

O Quadro 4.2 indica o ajuste adequado da regressão múltipla aplicada aos dados experimentais. A análise de variância indica que o modelo obtido é significativo. O parâmetro  $a$  do modelo cinético multicomponente de 1ª ordem é dependente do coeficiente linear da variável temperatura e pH, do coeficiente quadrático da variável pH e da interação da variável temperatura e pH. Os coeficientes significativos apresentados no Quadro 4.1 geram o modelo:

$$k_1 = (160,58 - 2,9082 \times T - 19,655 \times pH + 2,5473 \times pH^2 + 0,0150 \times T \times pH) \pm 0,008 \quad (4)$$

$$82,5 \text{ °C} \leq T \leq 87,5 \text{ °C}$$

$$3,6 \leq pH \leq 4,1$$



As Figuras 4.14 e 4.15 ilustram, respectivamente, as superfícies de resposta e linhas de contorno da variação dos parâmetros  $a$  e  $k_1$  em função da temperatura de processamento e do pH.

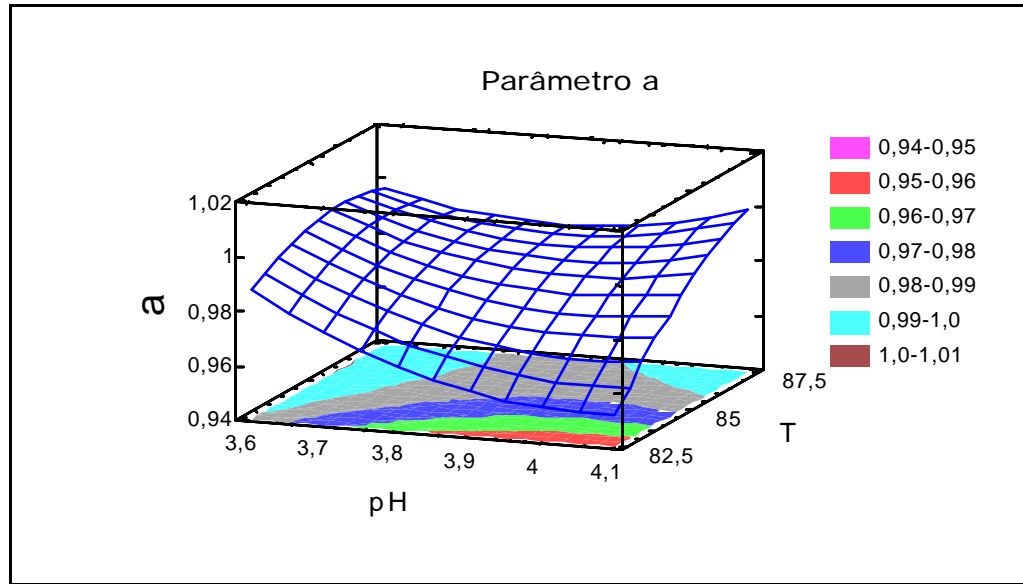


Figura 4.14 – Superfície de resposta e linhas de contorno do parâmetro  $a$  de acordo com o pH e temperatura de pasteurização empregada no suco de laranja.

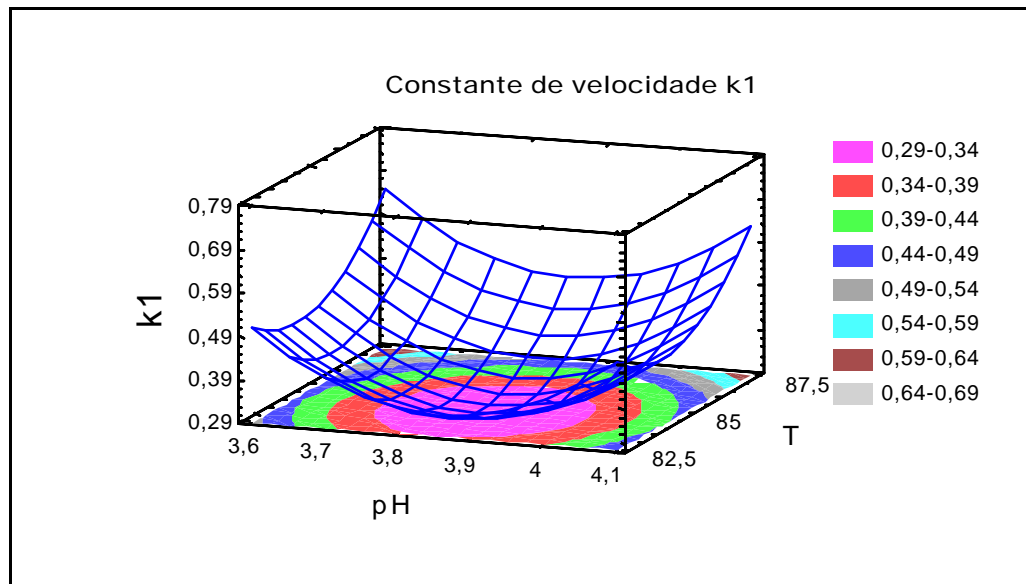


Figura 4.15 – Superfície de resposta e linhas de contorno do parâmetro  $k_1$  de acordo com o pH e temperatura de pasteurização empregada no suco de laranja.

Na Figura 4.14 pode-se observar comportamentos distintos na variação do parâmetro  $a$  com o pH nas temperaturas extremas. O suco pasteurizado a 82,5 °C apresenta uma diminuição da fração de enzima menos resistente com o aumento do pH, já o suco pasteurizado a 87,5 °C apresenta maiores frações de isoenzimas menos resistentes a esta temperatura nos pHs extremos e uma menor fração de isoenzimas menos resistentes no pH 3,8. Para cada pH estudado, o parâmetro  $a$  foi também influenciado pela temperatura de pasteurização, indicando um aumento da fração da isoenzima menos resistente com o aumento da temperatura.

Na Figura 4.15 a constante de velocidade  $k_1$  variou de forma semelhante em relação ao pH e à temperatura de processamento. A superfície de resposta apresenta pontos de mínimo (0,29 e 0,34 s<sup>-1</sup>) relativos aos pHs 3,8 e 3,9 e próximos à temperatura de 85,0 °C. Os maiores valores para a constante de velocidade  $k_1$  são encontrados nos extremos de pH e de temperatura de processamento.

No estudo da inativação térmica da pectinesterase na temperatura de pasteurização de 82,5°C e 87,0 °C e tempos de retenção aplicados entre 11 e 59 s, Badolato (2000) encontrou o valor de pH 3,95 e a temperatura de 82,5 °C como a condição de trabalho com menor taxa de inativação da enzima (<99%). A autora apresenta uma superfície de resposta indicando o pH do suco de laranja como forte influenciador da inativação térmica da enzima, com uma maior taxa de inativação nos valores extremos de pH (3,4 e 4,5).

Os modelos cinéticos encontrados neste trabalho confirmaram o pH como um fator influenciador de importância no estudo da pasteurização mínima do suco de laranja. A partir das equações das cinéticas obtidas e do pH da mistura do suco a ser processado é possível prever qual condição mínima seria mais favorável à pasteurização do suco de laranja, minimizando as perdas nutricionais e das características sensoriais do suco processado.

#### 4.5 Resultados da análise sensorial.

A análise sensorial para a determinação da vida de prateleira do suco de laranja pasteurizado foi aplicada ao painel de provadores previamente submetidos ao treinamento, na frequência de 2 vezes por semana. A ADQ (Análise Descritiva Qualitativa) foi aplicada em amostras do suco de laranja processado com pH 3,6 e pH 4,0 nas condições de processo indicadas no Quadro 3.1, sempre comparados com as respectivas amostras padrão.

O número total de provadores foi de 23 pessoas, entre estes 11 homens e 12 mulheres; alunos, professores e funcionários do Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. A presença destes nos dias de análise sensorial variou entre 16 e 22 pessoas. Todos os valores atribuídos pelos provadores nos dias de análise foram considerados na análise dos resultados.

O atributo *grau de diferença* entre as amostras do suco processado e o padrão foi utilizado na determinação do término do período de análise sensorial, que ocorreu quando este chegou a 50% de diferença, ou seja, 4,5 cm na escala não-estruturada.

Nas Tabelas 4.16 e 4.17 são apresentados os valores médios obtidos em relação aos atributos avaliados pelos provadores referentes ao suco de laranja padrão com pH 4,0 e com pH 3,6, respectivamente.

Todos os atributos relacionados ao *aroma* e *sabor*, além dos atributos *próprio para consumo* e *grau de diferença* do padrão não apresentaram diferença significativa, entre os valores médios atribuídos pelos provadores, durante o período de análise. Entretanto pode ser observada uma ligeira diferença no atributo *aroma fermentado* no último dia de análise no suco com pH 4,0.

Em relação ao padrão do suco com pH 3,6, as diferenças entre os valores atribuídos pelos provadores para os atributos *aroma de laranja*, *aroma fermentado* e *sabor de laranja* podem ter sido provocadas pela acidez do suco, possível causadora de certa confusão aos provadores, principalmente àqueles que não toleram sensorialmente alimentos com sabor muito ácido. Estes podem ter desclassificado o produto em relação às características positivas, como *sabor e aroma de laranja* e classificado como impróprio para o consumo, como forma de expressar esta rejeição.

Tabela 4.16 – Análise estatística (ANOVA) da média dos valores atribuídos pelos provadores às amostras de suco congelado (padrão) com pH 4,0 às características avaliadas no decorrer dos dias de análise sensorial.

Atributo	Dias de análise									
	2	6	9	13	16	20	23	27	30	DMS <sup>1</sup>
<b>Aparência</b>										
Cor	1,40 <sup>a,b</sup>	0,46 <sup>a</sup>	3,46 <sup>c</sup>	2,88 <sup>c</sup>	3,11 <sup>c</sup>	3,66 <sup>c</sup>	2,68 <sup>b,c</sup>	1,50 <sup>a,b</sup>	2,34 <sup>b,c</sup>	1,43
Partículas	1,19 <sup>a,b</sup>	0,88 <sup>a</sup>	1,68 <sup>a,b</sup>	1,36 <sup>a,b</sup>	1,23 <sup>a,b</sup>	1,69 <sup>a,b</sup>	2,43 <sup>b</sup>	1,22 <sup>a,b</sup>	0,98 <sup>a,b</sup>	1,63
<b>Aroma</b>										
Laranja	5,86 <sup>a</sup>	6,42 <sup>a</sup>	6,82 <sup>a</sup>	5,76 <sup>a</sup>	6,60 <sup>a</sup>	5,21 <sup>a</sup>	6,44 <sup>a</sup>	6,94 <sup>a</sup>	6,60 <sup>a</sup>	2,26
Fermentado	1,11 <sup>a,b</sup>	1,30 <sup>a,b</sup>	2,40 <sup>a,b</sup>	1,26 <sup>a,b</sup>	0,91 <sup>a,b</sup>	1,95 <sup>a,b</sup>	1,67 <sup>a,b</sup>	1,72 <sup>a,b</sup>	0,84 <sup>b</sup>	1,56
<b>Sabor</b>										
Laranja	8,60 <sup>a</sup>	9,66 <sup>a</sup>	6,94 <sup>a</sup>	6,51 <sup>a</sup>	7,47 <sup>a</sup>	6,89 <sup>a</sup>	6,29 <sup>a</sup>	6,81 <sup>a</sup>	6,77 <sup>a</sup>	4,08
Fermentado	0,94 <sup>a</sup>	1,05 <sup>a</sup>	1,59 <sup>a</sup>	1,03 <sup>a</sup>	1,35 <sup>a</sup>	1,54 <sup>a</sup>	1,33 <sup>a</sup>	1,11 <sup>a</sup>	0,88 <sup>a</sup>	1,32
Ácido	1,34 <sup>a</sup>	1,03 <sup>a</sup>	1,91 <sup>a</sup>	1,94 <sup>a</sup>	1,45 <sup>a</sup>	2,17 <sup>a</sup>	1,76 <sup>a</sup>	1,67 <sup>a</sup>	2,60 <sup>a</sup>	2,03
Amargo	1,52 <sup>a</sup>	1,34 <sup>a</sup>	1,54 <sup>a</sup>	1,41 <sup>a</sup>	1,63 <sup>a</sup>	1,81 <sup>a</sup>	2,35 <sup>a</sup>	1,28 <sup>a</sup>	1,60 <sup>a</sup>	1,58
<b>Próprio para Consumo</b>										
	-	8,11 <sup>a</sup>	7,38 <sup>a</sup>	7,93 <sup>a</sup>	6,91 <sup>a</sup>	7,25 <sup>a</sup>	7,48 <sup>a</sup>	7,83 <sup>a</sup>	8,07 <sup>a</sup>	2,12
<b>Grau de Diferença</b>										
	-	0,79 <sup>a</sup>	0,69 <sup>a</sup>	0,63 <sup>a</sup>	0,81 <sup>a</sup>	0,61 <sup>a</sup>	0,58 <sup>a</sup>	0,52 <sup>a</sup>	0,50 <sup>a</sup>	1,11

Letras iguais não diferem estatisticamente

<sup>1</sup>DMS – Diferença Mínima Significativa ( p<0,05)

Tabela 4.17 – Análise estatística (ANOVA) da média dos valores atribuídos pelos provadores às amostras de suco congelado (padrão) com pH 3,6 às características avaliadas no decorrer dos dias de análise sensorial.

Atributo	Dias de análise								
	1	5	8	12	15	19	22	26	DMS <sup>1</sup>
<b>Aparência</b>									
Cor	0,60 <sup>a,b</sup>	0,26 <sup>a</sup>	0,74 <sup>a,b</sup>	0,75 <sup>a,b</sup>	0,46 <sup>a,b</sup>	1,50 <sup>c</sup>	0,81 <sup>a,b</sup>	1,01 <sup>b,c</sup>	0,67
Partículas	0,17 <sup>a</sup>	1,99 <sup>b,c,d</sup>	2,48 <sup>b,c</sup>	3,03 <sup>c</sup>	0,95 <sup>a,d</sup>	1,02 <sup>a,d</sup>	1,40 <sup>a,b,d</sup>	1,68 <sup>b,d</sup>	1,35
<b>Aroma</b>									
Laranja	7,60 <sup>a</sup>	6,78 <sup>a,b</sup>	6,22 <sup>a,b</sup>	6,55 <sup>a,b</sup>	7,23 <sup>a</sup>	5,43 <sup>b</sup>	7,28 <sup>a</sup>	6,86 <sup>a,b</sup>	1,69
Fermentado	0,74 <sup>a</sup>	1,39 <sup>a</sup>	1,18 <sup>a</sup>	1,00 <sup>a</sup>	0,87 <sup>a</sup>	2,03 <sup>a</sup>	1,10 <sup>a</sup>	1,36 <sup>a</sup>	1,31
<b>Sabor</b>									
Laranja	7,53 <sup>a</sup>	6,87 <sup>a,b</sup>	4,97 <sup>a,b</sup>	6,23 <sup>a,b</sup>	6,16 <sup>a,b</sup>	5,52 <sup>b</sup>	6,75 <sup>a,b</sup>	6,26 <sup>a,b</sup>	1,81
Fermentado	0,71 <sup>a</sup>	1,11 <sup>a</sup>	1,44 <sup>a</sup>	1,20 <sup>a</sup>	1,55 <sup>a</sup>	1,67 <sup>a</sup>	1,14 <sup>a</sup>	1,46 <sup>a</sup>	1,09
Ácido	5,49 <sup>a</sup>	4,93 <sup>a</sup>	4,54 <sup>a</sup>	4,39 <sup>a</sup>	5,28 <sup>a</sup>	5,24 <sup>a</sup>	5,41 <sup>a</sup>	5,39 <sup>a</sup>	2,30
Amargo	1,57 <sup>a</sup>	2,05 <sup>a</sup>	2,46 <sup>a</sup>	1,60 <sup>a</sup>	2,99 <sup>a</sup>	1,78 <sup>a</sup>	1,83 <sup>a</sup>	2,13 <sup>a</sup>	1,89
<b>Próprio para Consumo</b>									
	-	7,12 <sup>a,b</sup>	6,36 <sup>a,b</sup>	7,46 <sup>a</sup>	6,45 <sup>a,b</sup>	5,56 <sup>b</sup>	6,89 <sup>a,b</sup>	5,95 <sup>a,b</sup>	1,77
<b>Grau de Diferença</b>									
	-	1,38 <sup>a</sup>	1,62 <sup>a</sup>	1,43 <sup>a</sup>	1,68 <sup>a</sup>	1,15 <sup>a</sup>	1,37 <sup>a</sup>	0,89 <sup>a</sup>	1,27

Letras iguais não diferem estatisticamente

<sup>1</sup>DMS – Diferença Mínima Significativa ( p<0,05)

A ANOVA aplicada indicou que o tempo de armazenamento do suco padrão congelado até 30 dias manteve inalteradas as características de *aroma*, *sabor*, *próprio para consumo* e *grau de diferença*, o que tornou o suco aceitável para ocupar a posição de padrão e validar a análise sensorial.

O atributo *grau de diferença* do padrão não apresentou diferença significativa durante todo o período de análise, o que mostra coerência por parte dos avaliadores na análise.

Vale ressaltar que com o decorrer do tempo de análise, os provadores foram percebendo que as amostras analisadas eram muito parecidas, como pode ser constatado pela diminuição nos valores atribuídos pelos provadores para o *grau de diferença*, conforme indicam as Tabelas 4.16 e 4.17.

Em relação ao atributo *sabor ácido*, os sucos com pH 3,6 e 4,0 não apresentaram variação significativa entre os dias de análise, porém pode-se observar que o suco de pH 3,6 foi considerado mais ácido (média dos valores atribuídos entre 4,39 e 5,49) do que o suco com pH 4,0, com média dos valores atribuídos entre 1,03 e 2,60.

Nas Tabelas 4.18 e 4.19 são apresentados os valores médios obtidos para os atributos avaliados pelos provadores relativos aos sucos de laranja pasteurizados com pH 4,0 e com pH 3,6, respectivamente.

A ANOVA aplicada nos valores obtidos para o *aroma laranja* e *aroma fermentado*, bem como para os atributos *desabor laranja* e *fermentado*, indicou que o tempo de análise até 26 dias para o suco com pH 3,6 e até 30 dias com o pH 4,0 influenciou significativamente estas características sensoriais, ao nível de 5%.

O atributo *próprio para consumo* para ambos os sucos apresentou uma tendência de queda. O *grau de diferença* em relação ao padrão aumentou significativamente atingindo o valor de 50 % para o suco com pH 3,6 com 26 dias e no suco com pH 4,0 com 30 dias de armazenamento refrigerado.

Os atributos relativos à aparência, cor e partículas apresentaram diferenças significativas entre os dias de análise, porém não apresentaram uma tendência de aumento ou diminuição no decorrer do período de análise.

Tabela 4.18 – Análise estatística (ANOVA) da média dos valores atribuídos pelos provadores às amostras de suco refrigerado com pH 4,0 às características avaliadas no decorrer dos dias de análise sensorial.

Atributo	Dias de análise									
	2	6	9	13	16	20	23	27	30	DMS <sup>1</sup>
<b>Aparência</b>										
Cor	1,20 <sup>a</sup>	1,54 <sup>a,b</sup>	3,32 <sup>c</sup>	3,31 <sup>c</sup>	2,72 <sup>b,c</sup>	1,53 <sup>a,b</sup>	3,79 <sup>c</sup>	2,92 <sup>b,c</sup>	4,08 <sup>c</sup>	1,55
Partículas	2,73 <sup>a,b</sup>	0,80 <sup>c</sup>	4,48 <sup>d</sup>	3,87 <sup>a,b,d</sup>	2,17 <sup>a,c</sup>	0,49 <sup>c</sup>	3,54 <sup>a,b,d</sup>	0,97 <sup>c</sup>	4,23 <sup>b,d</sup>	1,89
<b>Aroma</b>										
Laranja	6,77 <sup>a</sup>	6,19 <sup>a</sup>	6,34 <sup>a</sup>	5,47 <sup>a</sup>	5,33 <sup>a</sup>	5,14 <sup>a</sup>	6,08 <sup>a</sup>	5,10 <sup>a</sup>	4,67 <sup>a</sup>	3,11
Fermentado	1,39 <sup>a</sup>	1,31 <sup>a</sup>	2,14 <sup>a,b</sup>	2,32 <sup>a,b</sup>	1,95 <sup>a</sup>	2,29 <sup>a,b</sup>	2,80 <sup>a,b,c</sup>	3,86 <sup>b,c</sup>	4,26 <sup>c</sup>	1,97
<b>Sabor</b>										
Laranja	7,79 <sup>a</sup>	7,20 <sup>a,b</sup>	5,54 <sup>b,c,d</sup>	6,10 <sup>a,b,c</sup>	5,53 <sup>b,c,d</sup>	5,83 <sup>a,b,c,d</sup>	5,03 <sup>c,d</sup>	5,10 <sup>c,d</sup>	4,02 <sup>d</sup>	2,15
Fermentado	1,21 <sup>a</sup>	1,70 <sup>a</sup>	1,20 <sup>a</sup>	2,02 <sup>a,b</sup>	1,84 <sup>a,b</sup>	1,65 <sup>a</sup>	2,29 <sup>a,b,c</sup>	3,44 <sup>b,c</sup>	3,72 <sup>c</sup>	1,77
Ácido	1,32 <sup>a</sup>	1,10 <sup>a</sup>	2,01 <sup>a</sup>	1,30 <sup>a</sup>	1,80 <sup>a</sup>	2,06 <sup>a</sup>	1,31 <sup>a</sup>	2,37 <sup>a</sup>	2,01 <sup>a</sup>	1,64
Amargo	1,55 <sup>a</sup>	2,41 <sup>a</sup>	2,13 <sup>a</sup>	2,08 <sup>a</sup>	2,25 <sup>a</sup>	1,87 <sup>a</sup>	2,19 <sup>a</sup>	1,29 <sup>a</sup>	1,71 <sup>a</sup>	1,68
<b>Próprio para Consumo</b>										
	-	7,54 <sup>a</sup>	6,60 <sup>a,b</sup>	7,16 <sup>a,b</sup>	6,04 <sup>a,b</sup>	6,91 <sup>a,b</sup>	6,15 <sup>a,b</sup>	5,65 <sup>a,b</sup>	5,44 <sup>b</sup>	2,17
<b>Grau de Diferença</b>										
	1,1 <sup>a</sup>	1,75 <sup>a,b</sup>	1,91 <sup>a,b</sup>	2,21 <sup>a,b</sup>	2,52 <sup>a,b</sup>	1,72 <sup>a,b</sup>	2,34 <sup>a,b</sup>	3,62 <sup>bc</sup>	4,96 <sup>c</sup>	2,22

Letras iguais não diferem estatisticamente

<sup>1</sup>DMS – Diferença Mínima Significativa ( p<0,05)

Tabela 4.19 – Análise estatística (ANOVA) da média dos valores atribuídos pelos provadores às amostras de suco refrigerado com pH 3,6 às características avaliadas no decorrer dos dias de análise sensorial.

Atributo	Dias de análise								
	1	5	8	12	15	19	22	26	DMS <sup>1</sup>
<b>Aparência</b>									
Cor	0,52 <sup>a</sup>	0,46 <sup>a</sup>	0,98 <sup>a</sup>	0,42 <sup>a</sup>	1,05 <sup>a</sup>	0,47 <sup>a</sup>	0,55 <sup>a</sup>	0,62 <sup>a</sup>	0,72
Partículas	0,64 <sup>a</sup>	0,68 <sup>a</sup>	5,12 <sup>c</sup>	1,40 <sup>a,b</sup>	2,52 <sup>b</sup>	0,51 <sup>a</sup>	1,56 <sup>a,b</sup>	1,58 <sup>a,b</sup>	1,51
<b>Aroma</b>									
Laranja	7,64 <sup>a</sup>	6,60 <sup>a,b</sup>	6,72 <sup>a,b</sup>	5,93 <sup>b</sup>	6,10 <sup>a,b</sup>	5,14 <sup>b</sup>	5,50 <sup>b</sup>	5,09 <sup>b</sup>	1,85
Fermentado	0,81 <sup>a</sup>	1,73 <sup>a,b</sup>	1,71 <sup>a,b</sup>	2,33 <sup>a,b</sup>	2,54 <sup>b,c</sup>	3,16 <sup>b,c,d</sup>	4,01 <sup>c,d</sup>	4,19 <sup>d</sup>	1,66
<b>Sabor</b>									
Laranja	7,69 <sup>a</sup>	6,38 <sup>a,b</sup>	5,51 <sup>b</sup>	5,70 <sup>b</sup>	5,04 <sup>b</sup>	4,92 <sup>b</sup>	5,14 <sup>b</sup>	4,77 <sup>b</sup>	1,83
Fermentado	0,85 <sup>a</sup>	1,62 <sup>a,b</sup>	1,51 <sup>a,b</sup>	1,89 <sup>a,b</sup>	2,56 <sup>b,c</sup>	2,39 <sup>b,c</sup>	2,18 <sup>b,c</sup>	3,60 <sup>c</sup>	1,51
Ácido	5,10 <sup>a</sup>	5,20 <sup>a</sup>	4,49 <sup>a</sup>	4,44 <sup>a</sup>	5,19 <sup>a</sup>	5,16 <sup>a</sup>	5,40 <sup>a</sup>	5,33 <sup>a</sup>	2,32 <sup>a</sup>
Amargo	1,37 <sup>a</sup>	2,81 <sup>a</sup>	2,42 <sup>a</sup>	2,19 <sup>a</sup>	2,74 <sup>a</sup>	2,00 <sup>a</sup>	2,51 <sup>a</sup>	3,01 <sup>a</sup>	2,07 <sup>a</sup>
<b>Próprio para Consumo</b>									
	-	6,80 <sup>a</sup>	5,73 <sup>a,b,c</sup>	6,30 <sup>a,b</sup>	5,57 <sup>a,b,c,d</sup>	4,99 <sup>a,b,c</sup>	4,35 <sup>c,d</sup>	3,40 <sup>d</sup>	1,78
<b>Grau de Diferença</b>									
	0,97 <sup>a</sup>	2,88 <sup>a,b,c</sup>	1,37 <sup>a</sup>	3,69 <sup>b,c</sup>	3,69 <sup>b,c</sup>	2,48 <sup>a,b</sup>	4,65 <sup>c</sup>	4,63 <sup>c</sup>	2,05

Letras iguais não diferem estatisticamente

<sup>1</sup>DMS – Diferença Mínima Significativa ( p<0,05)



As Figuras 4.16, 4.17, 4.18 e 4.19 apresentam a variação dos atributos de *sabor e aroma laranja* e *sabor e aroma fermentado* no período de análise dos sucos com pH 3,6 e 4,0.

As Figuras 4.20, 4.21, 4.22 e 4.23 apresentam a variação da frequência dos valores atribuídos às características *sabor e aroma fermentado* no decorrer dos dias da análise sensorial para as amostras em relação ao respectivo padrão do suco de laranja pasteurizado com pH 3,6 e 4,0, respectivamente.

Em todos os dias de análise, se pode constatar que a frequência dos valores atribuídos às características citadas para o padrão é alta para valores baixos, enquanto ocorre um espalhamento com tendência de aumento para as mesmas características sensoriais nas amostras com pH 3,6 e com pH 4,0.

O atributo *sabor amargo* não foi influenciado pelo tempo de armazenagem refrigerada do suco com pH 3,6 e com pH 4,0 no intervalo estudado.

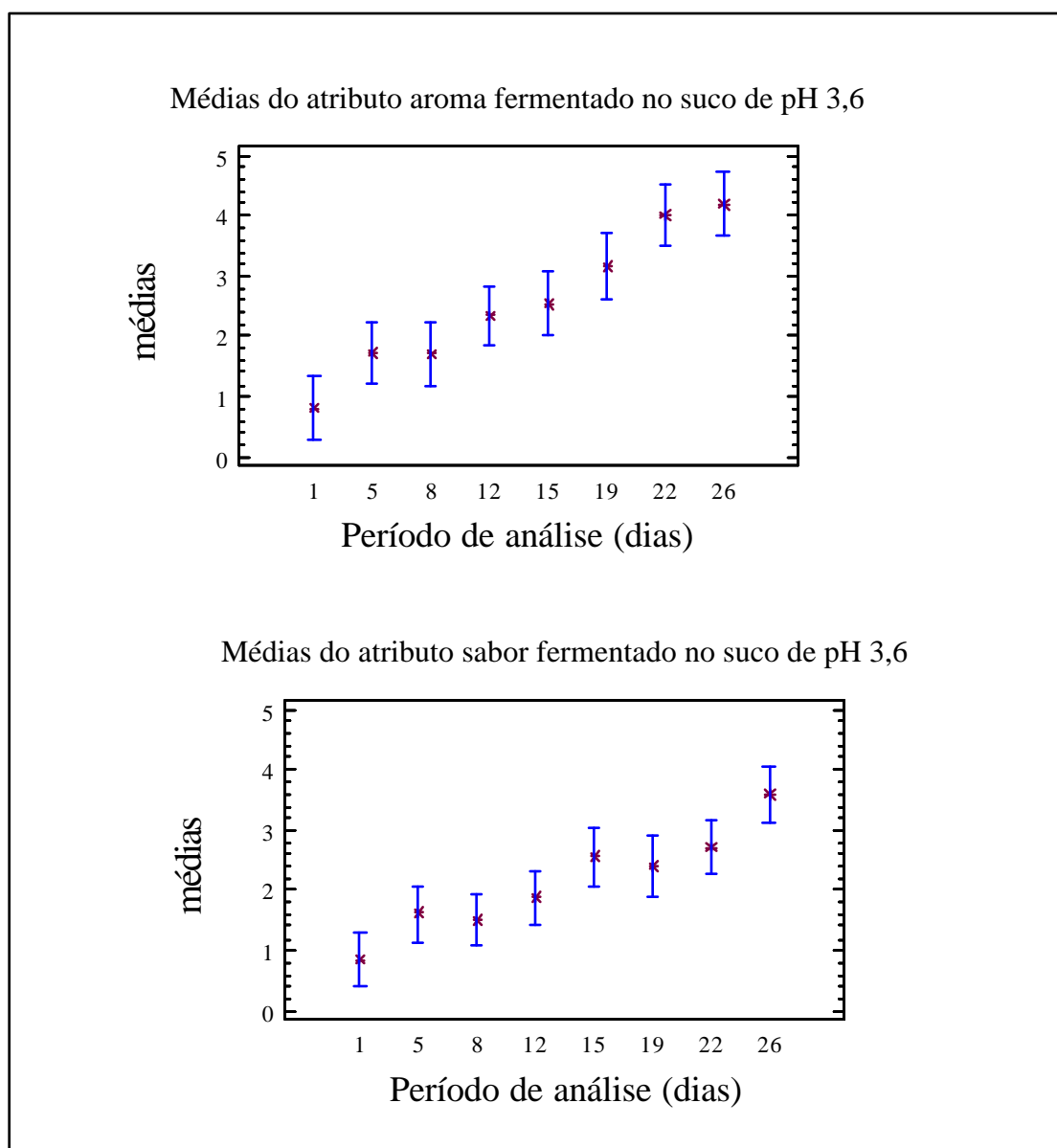


Figura 4.16 –Variação dos atributos *aroma* e *sabor fermentado* no decorrer do período da análise sensorial, no suco com pH 3,6.

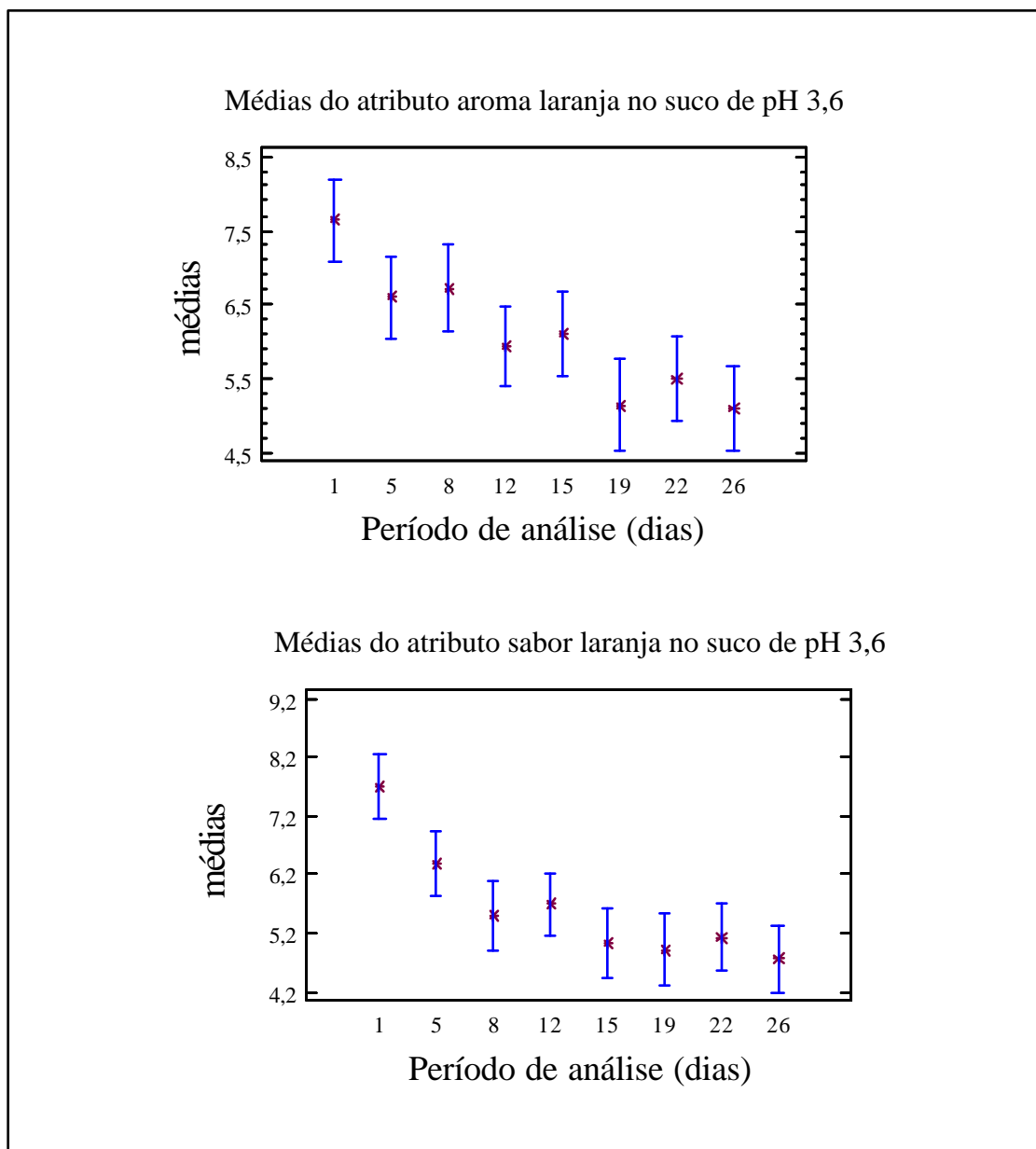


Figura 4.17 – Variação dos atributos *aroma* e *sabor laranja* no decorrer do período da análise sensorial, no suco com pH 3,6.

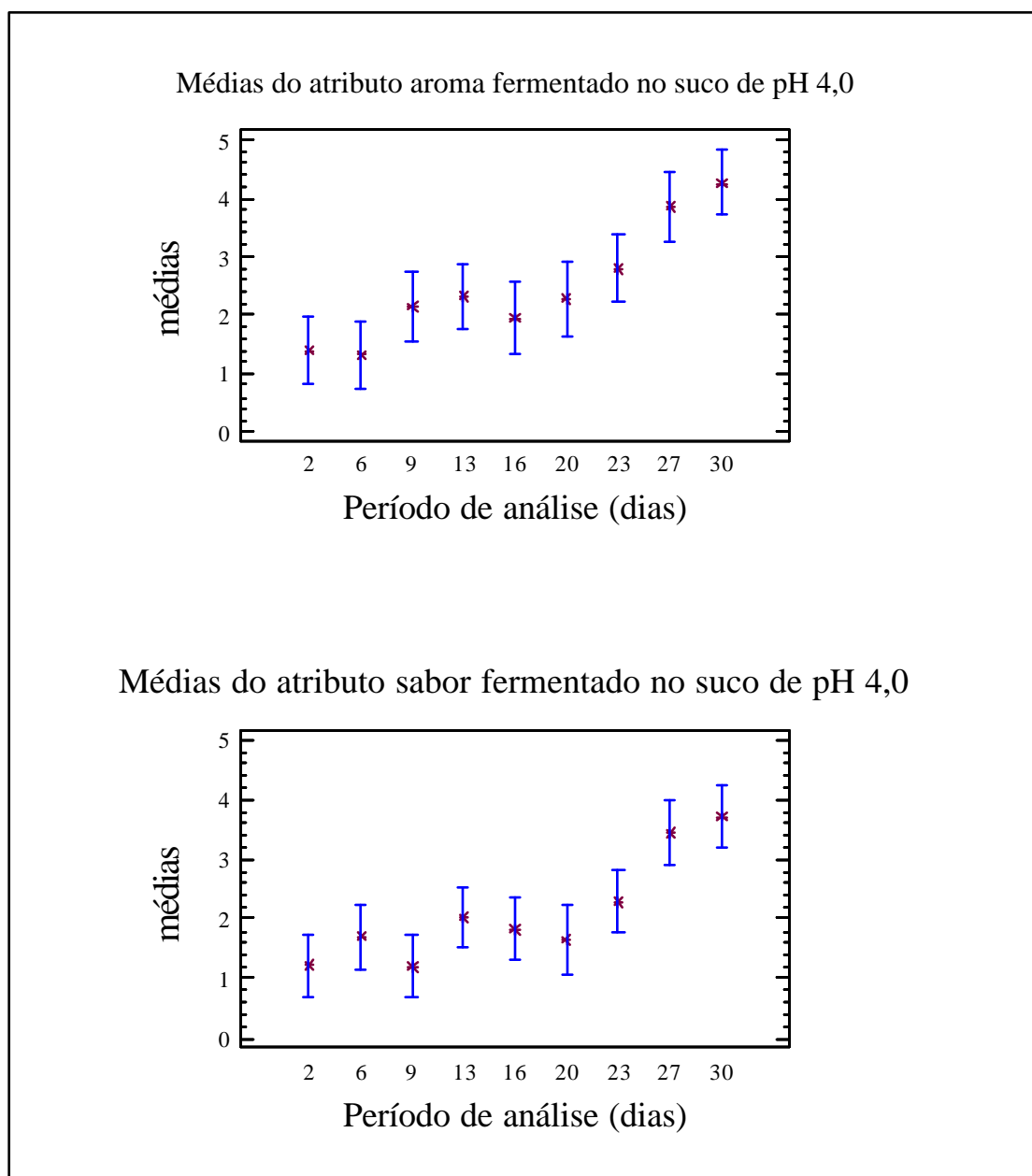


Figura 4.18 – Variação dos atributos *aroma* e *sabor fermentado* no decorrer do período da análise sensorial, no suco com pH 4,0.

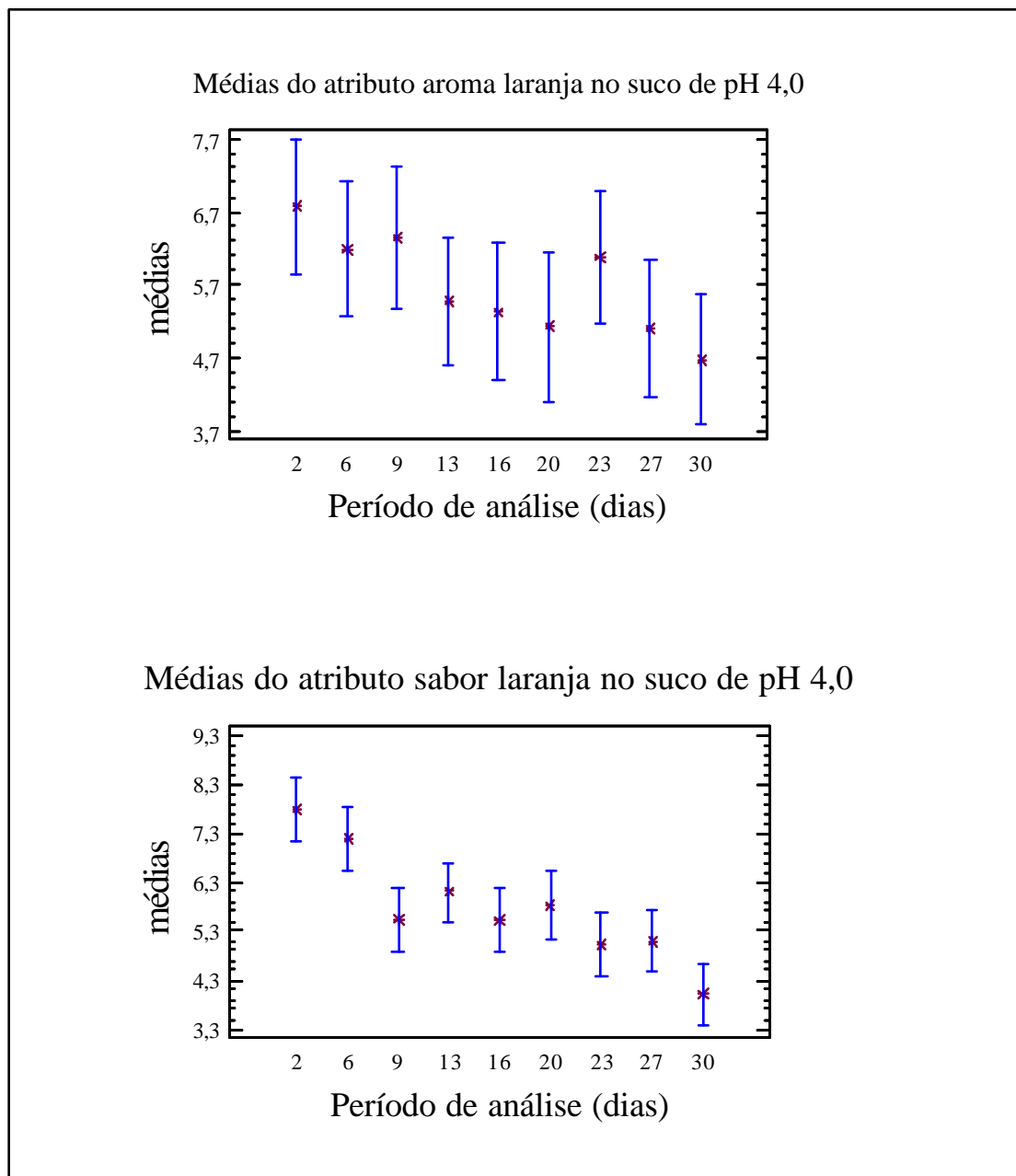


Figura 4.19 – Variação dos atributos *aroma e sabor laranja* no decorrer do período da análise sensorial, no suco com pH 4,0.

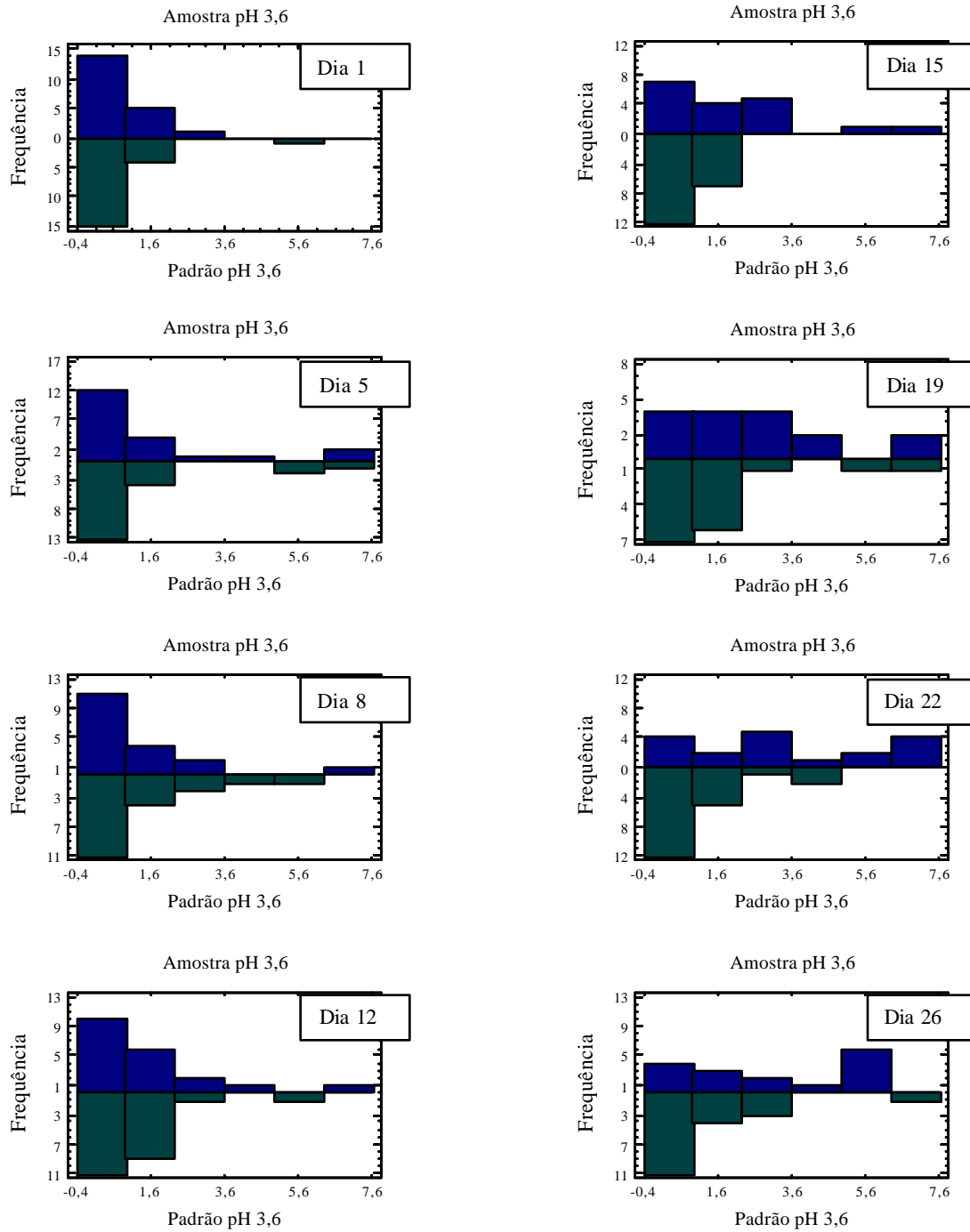


Figura 4.20 – Comparação entre a variação da frequência dos valores atribuídos à característica *aroma fermentado* para as amostras e o padrão do suco de laranja com pH 3,6 no decorrer dos dias de análise sensorial.

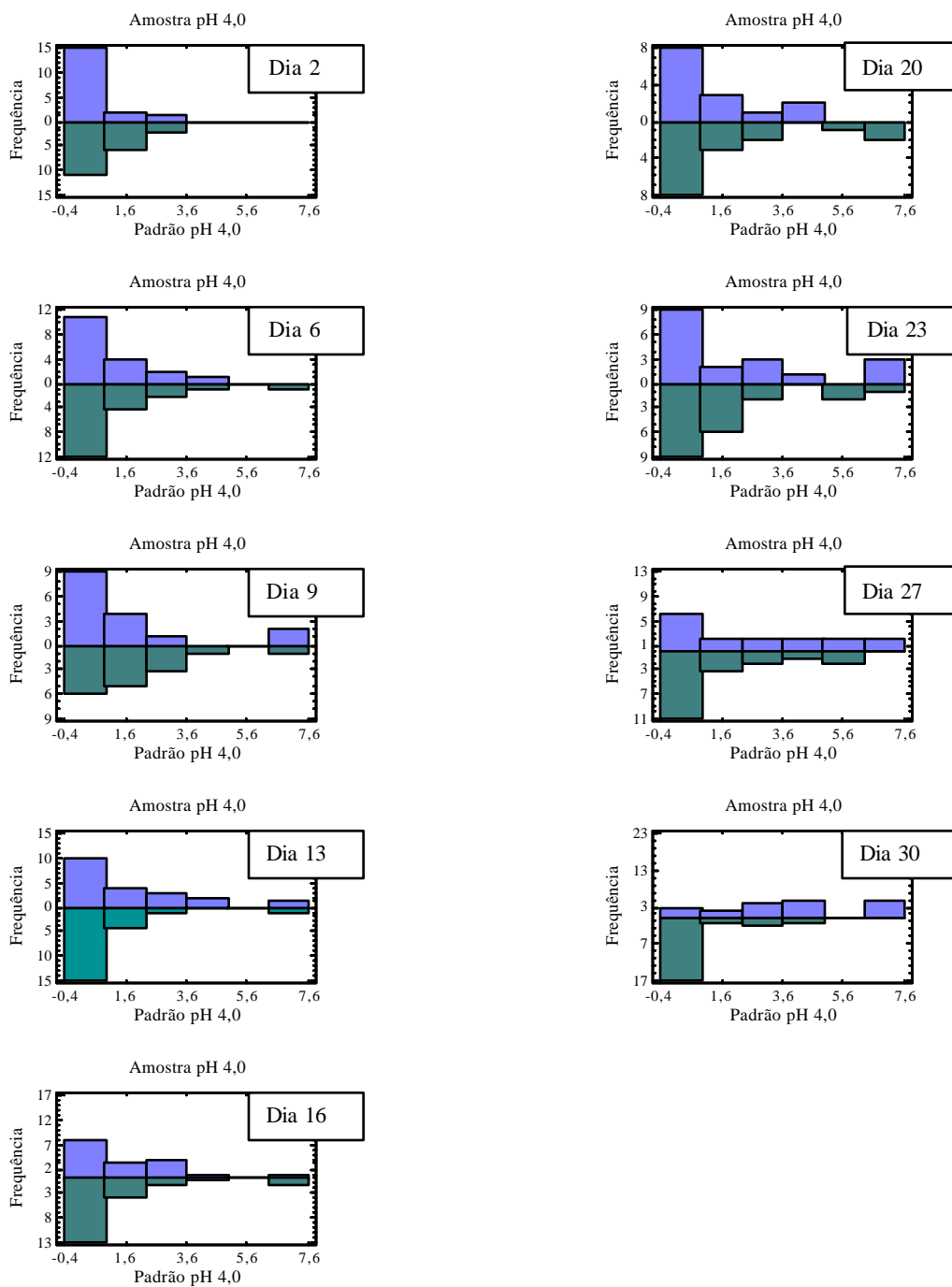


Figura 4.21 – Comparação entre a variação da freqüência dos valores atribuídos à característica *aroma fermentado* para as amostras e o padrão do suco de laranja com pH 4,0 no decorrer dos dias de análise sensorial.

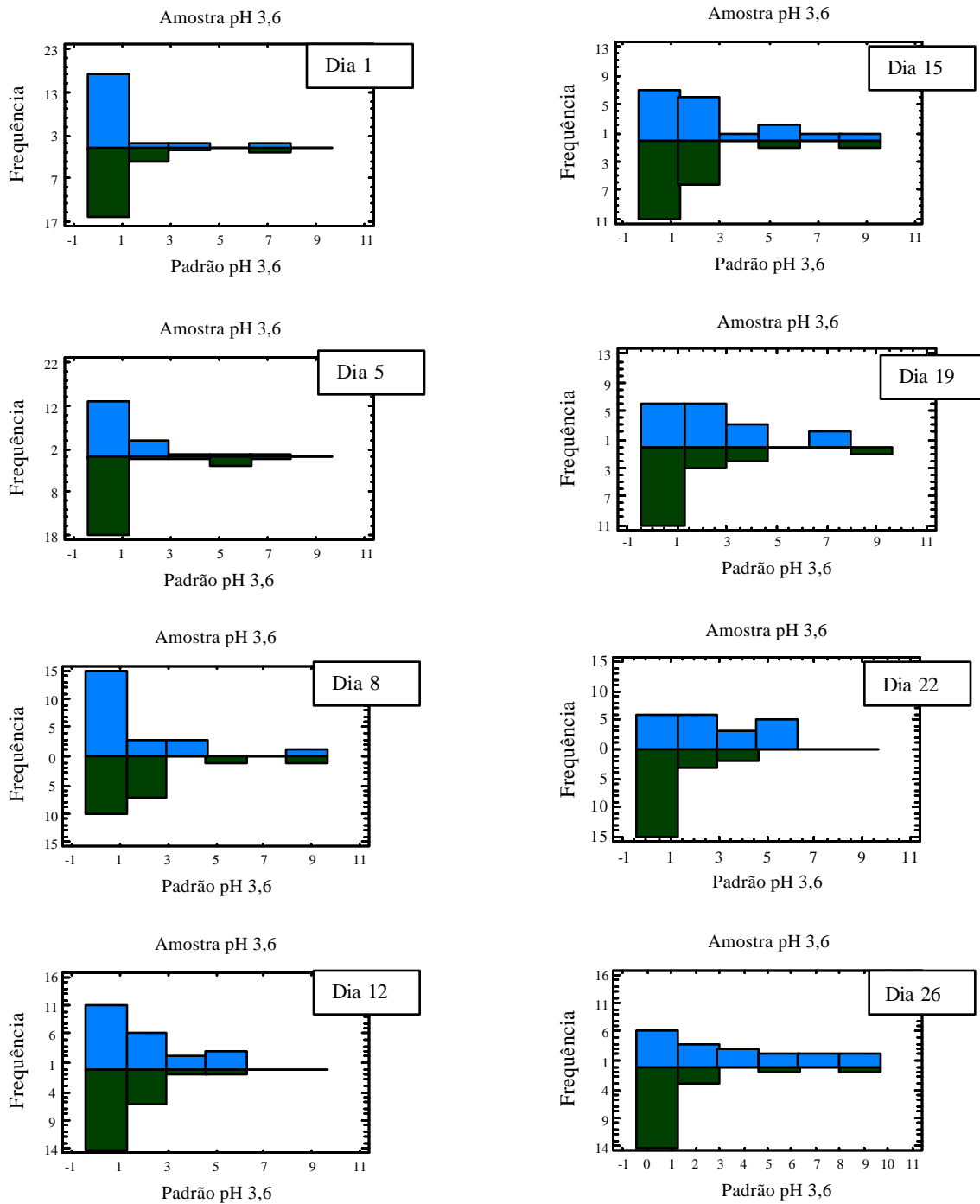


Figura 4.22 – Comparação entre a variação da frequência dos valores atribuídos à característica *sabor fermentado* para as amostras e o padrão do suco de laranja com pH 3,6 no decorrer dos dias de análise sensorial.



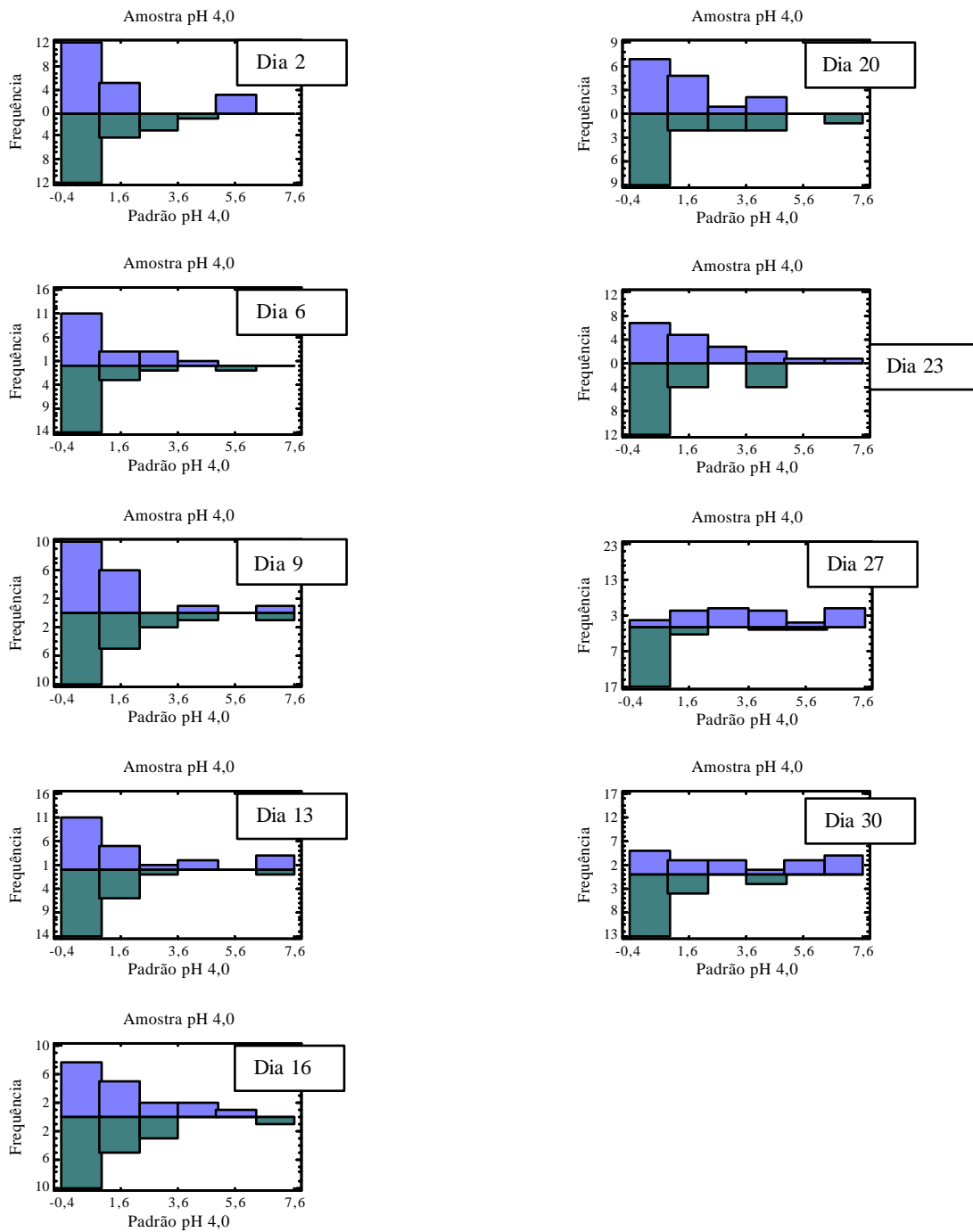


Figura 4.23 – Comparação entre a variação da freqüência dos valores atribuídos à característica *sabor fermentado* para as amostras e o padrão do suco de laranja com pH 4,0 no decorrer dos dias de análise sensorial.

Durante o período de análise realizado, os valores atribuídos à característica *próprio para o consumo* apresentou uma tendência de queda, o que indica uma provável perda da qualidade sensorial do produto. No caso do suco com pH 3,6 esta perda se mostrou mais significativa a partir do 22º dia quando o valor foi inferior a 4,5 (50%), no entanto esta diferença não foi detectada pelos provadores no suco de laranja com pH 4,0, conforme pode ser verificado nas Figuras 4.24 e 4.25.

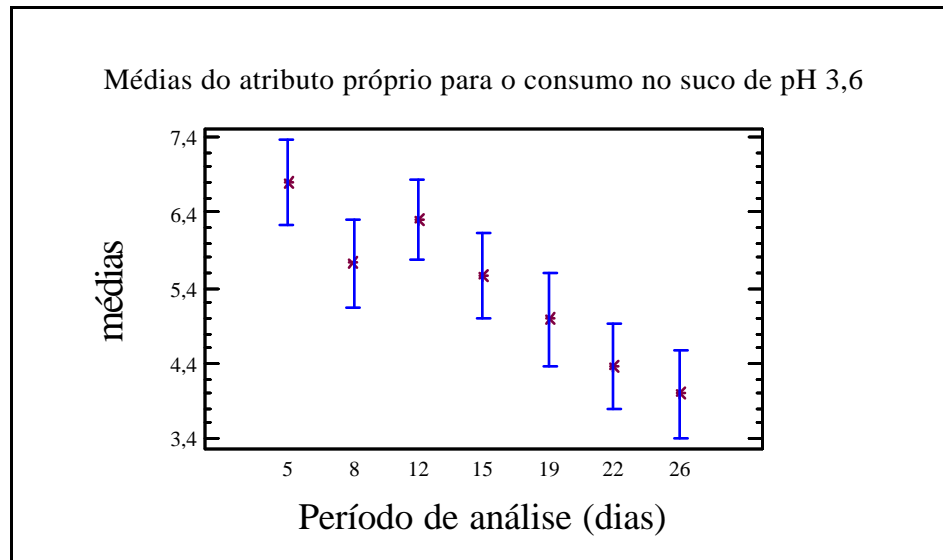


Figura 4.24 – Média dos valores atribuídos para o atributo *próprio para o consumo* no decorrer dos dias de análise do suco com pH 3,6.

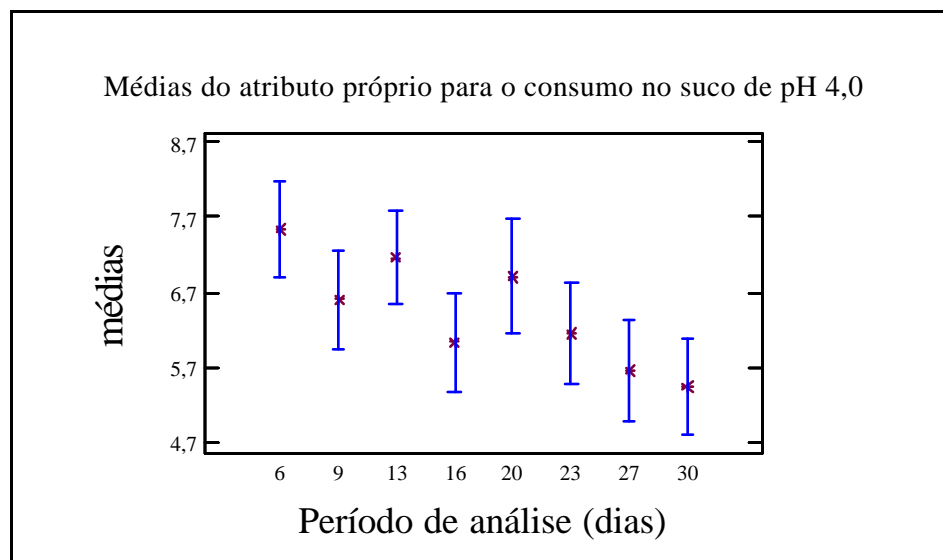


Figura 4.25 – Média dos valores atribuídos para o atributo *próprio para o consumo* no decorrer dos dias de análise do suco com pH 4,0.

#### 4.5.1 Estimativa da vida de prateleira.

O tempo de vida de prateleira do produto pode ser estimado por meio da análise de regressão linear utilizando o melhor ajuste dos valores atribuídos ao atributo mais relevante em relação ao período de armazenagem do produto, conforme proposto por Faria; Mori; Yotsuyanagi, 2000. No caso do suco de laranja minimamente processado foi selecionado o *sabor fermentado* como atributo que melhor caracteriza o estado de deterioração do produto e a rejeição deste pelos provadores.

Os valores obtidos para o atributo *sabor fermentado* também foram ajustados por meio da análise de regressão linear, onde vários modelos foram testados. Os modelos encontrados com melhor ajuste para cada suco com pH 3,6 e 4,0 estão apresentados nos quadros 4.3 e 4.4, respectivamente

Quadro 4.3 – Análise de regressão aplicada aos valores médios do atributo *sabor fermentado* no suco com pH 3,6.

Melhor ajuste:	$y=(1,00082 + 0,0306631 * x)^2$ (5)				
<b>Modelo Raiz Quadrada de y</b>	onde y são os valores atribuídos ao sabor fermentado e x é o período de análise (dias)				
<b>Análise de Variância</b>					
Fonte	Soma dos quadrados	GL	Média dos quadrados	F-Ratio	Valor de P
Modelo	0,490798	1	0,490798	30,74	0,0015
Resíduo	0,0966335	6	0,0161056		
Total	0,587431	7			
Coeficiente de correlação		0,914056			
R <sup>2</sup>		0,835498			
Erro Padrão		0,126908			

Quadro 4.4 – Análise de regressão aplicada aos valores médios do atributo *sabor fermentado* no suco com pH 4,0.

Melhor ajuste:	$y=1,0835 e^{0,0368x}$					(6)
<b>Modelo Exponencial</b>	onde y são os valores atribuídos ao sabor fermentado e x é o período de análise (dias)					
<b>Análise de Variância</b>						
Fonte	Soma dos quadrados	GL	Média dos quadrados	F-Ratio	Valor de P	
Modelo	0,996258	1	0,996258	24,65	0,0016	
Resíduo	0,28297	7	0,0404243			
Total	1,27923	8				
Coeficiente de correlação		0,882494				
R <sup>2</sup>		0,778796				
Erro Padrão		0,201058				

As Figuras 4.26 e 4.27 apresentam as curvas ajustadas à variação do atributo *sabor fermentado* no decorrer dos dias de análise, respectivamente no suco com pH 3,6 e 4,0.

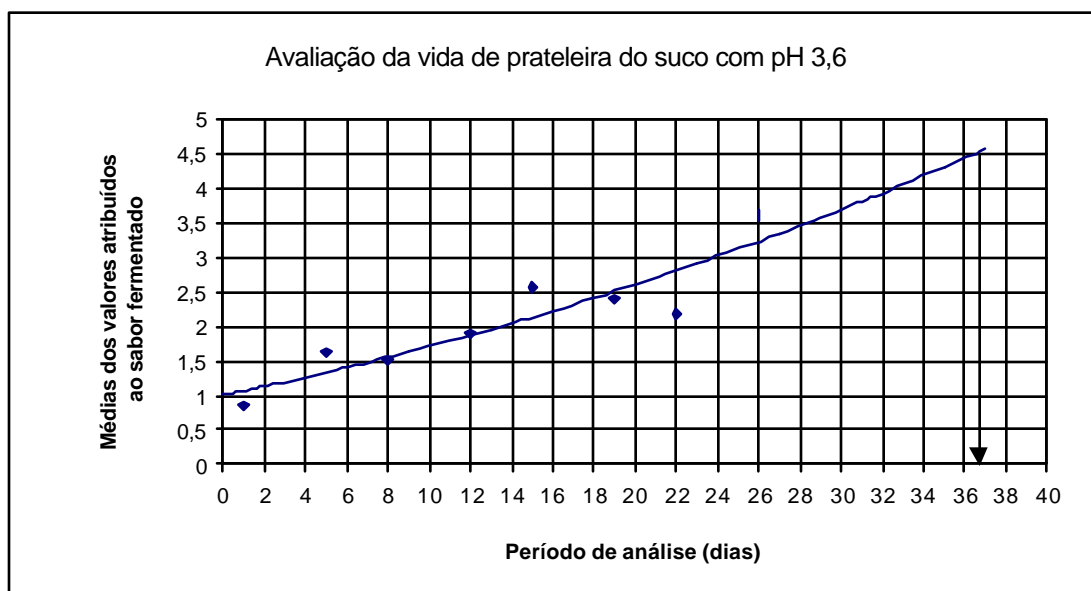


Figura 7.26 – Avaliação da vida de prateleira do suco com pH 3,6.

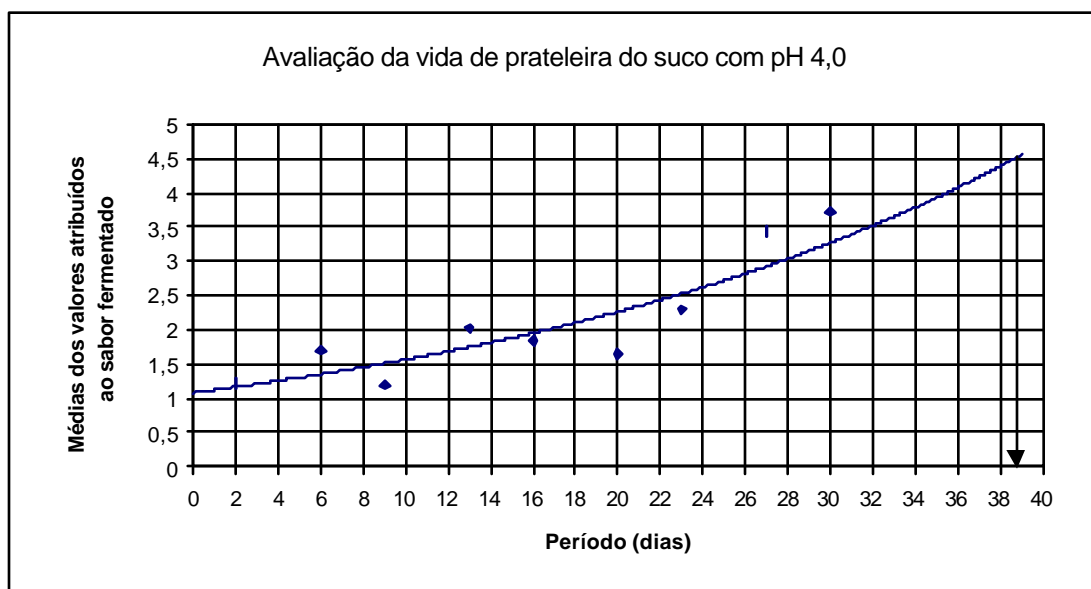


Figura 7.27 – Avaliação da vida de prateleira do suco com pH 4,0.

Segundo Faria; Mori; Yotsuyanagi, 2000, quando o atributo chega a uma distância de 50% na escala não estruturada do seu valor inicial (extremo positivo – ausência de sabor fermentado) então estará no limite de sua vida de prateleira.

A partir das equações 5 e 6 pode ser estimado que o produto analisado apresenta tempo de prateleira médio de aproximadamente 36 dias e para um intervalo de confiança de 95% estaria variando entre 34 e 38 dias para o suco com pH 3,6 e com média de aproximadamente 39 dias com variação entre 37 e 41 dias para o suco

com pH 4,0. Considerando a vida de prateleira mínima de cada suco, ambos apresentaram vida de prateleira próxima à que é atribuída aos sucos pasteurizados de forma convencional de marcas comerciais que é de 35 dias.

## 5. CONCLUSÕES

A partir da execução dos ensaios, tratamento dos resultados e discussão pode-se concluir que os objetivos deste trabalho foram atingidos.

O suco de laranja natural não processado apresentou variação quanto aos parâmetros físico-químicos: acidez titulável e *ratio* em relação ao pH controlado da mistura. A acidez foi menor nos sucos com maiores valores de pH e o *ratio* variou proporcionalmente com o pH das misturas. Ambos os parâmetros se comportaram de forma semelhante no suco de laranja processado. No suco de laranja processado também houve variação significativa nos teores de sólidos solúveis e polpa.

As diferentes temperaturas de processamento aplicadas não influenciaram significativamente os parâmetros físico-químicos do suco de laranja minimamente pasteurizado.

O tempo de retenção aplicado no processo influenciou o teor de polpa do produto. Quanto maior o tempo de retenção, menor foi a quantidade de polpa presente no suco, possivelmente como consequência da menor vazão de suco e menor velocidade média no canal entre as placas do trocador, o que possibilitou uma maior retenção da polpa dentro do equipamento.

As características físico-químicas acidez titulável, *ratio*, sólidos solúveis e teor de polpa variaram com a safra da fruta.

No estudo da atividade residual da pectinesterase pode-se observar a ocorrência de uma maior inativação da enzima com o aumento da temperatura e com o aumento do tempo de retenção.

Os níveis de inativação máximos alcançados variaram com o pH. Observou-se uma menor e mais lenta inativação da PE nas misturas de suco de laranja com pH 3,8 e níveis máximos e maiores velocidades de inativação em misturas com pH 3,6 e 3,7.

Em todas as cinéticas obtidas observou-se uma estabilização na taxa de inativação a partir do tempo de retenção de 20 segundos, sugerindo que este tempo de retenção seja considerado como tempo de retenção máximo para pasteurização mínima, nas temperaturas empregadas neste trabalho.

O modelo multicomponente de cinética de 1ª ordem utilizado apresentou bom ajuste aos dados obtidos experimentalmente para todos os pH/temperaturas de pasteurização estudados.

O ajuste do modelo confirma a existência de dois grupos de isoenzimas com resistências térmicas diferentes. Estes dois grupos foram responsáveis pelas diferenças entre as constantes de velocidade  $k_1$  e  $k_2$ , que diferiram quanto à ordem de grandeza.

Os parâmetros  $a$  e  $k_1$  do modelo foram influenciados pela variação do pH nas misturas de suco de laranja analisadas, porém a variação da temperatura só influenciou as frações das isoenzimas mais e menos resistentes. O ponto de mínima quantidade da fração de isoenzima mais resistente foi obtido no pH 3,8. A constante de velocidade  $k_2$  não foi influenciada pelo pH e pela temperatura de processamento.

O modelo obtido pela regressão múltipla linear aplicada à variação do parâmetro  $a$  com a temperatura de processamento e o pH foi:

$$a = (-0,0315 + 0,1335 \times T - 0,0011 \times \text{pH} + 0,0150 \times T \times \text{pH}) \pm 0,008$$

$$82,5 \text{ }^\circ\text{C} \leq T \leq 87,5 \text{ }^\circ\text{C}$$

$$3,6 \leq \text{pH} \leq 4,1$$

O modelo obtido pela regressão múltipla linear aplicada à variação do parâmetro  $k_1$  com a temperatura de processamento e o pH foi:

$$k_1 = (160,58 - 2,9082 \times T - 19,655 \times \text{pH} + 2,5473 \times \text{pH}^2 + 0,0150 \times T \times \text{pH}) \pm 0,008$$

$$82,5 \text{ }^\circ\text{C} \leq T \leq 87,5 \text{ }^\circ\text{C}$$

$$3,6 \leq \text{pH} \leq 4,1$$

O tempo de armazenamento até 30 dias refrigerado não influenciou significativamente seus parâmetros físico-químicos.

O suco de laranja processado congelado foi considerado um bom padrão na avaliação da vida de prateleira do suco de laranja refrigerado por meio da avaliação sensorial ADQ realizado por um painel de provadores treinados, por não ter apresentado alterações nas suas características sensoriais durante o período de análise.

Os atributos relativos à aparência, cor e partículas dos sucos refrigerados apresentaram diferenças significativas entre os dias de análise, porém não apresentaram uma tendência de aumento ou diminuição no decorrer do período de análise.



Durante o período de análise realizado, os valores atribuídos à característica *próprio para o consumo* apresentaram uma tendência de queda, o que indicou uma provável perda da qualidade sensorial do produto. Esta perda aparentemente foi decorrente do aumento do *sabor e aroma fermentado* e da diminuição do *sabor e aroma de laranja*.

A estimativa da vida de prateleira do suco de laranja minimamente pasteurizado até a inativação de 2 ciclos logarítmicos, foi de 36 dias no suco com pH 3,6, variando entre 34 e 38 dias para um intervalo de confiança de 95% e de 39 dias, variando entre 37 e 41 dias para o suco com pH 4,0. Portanto pode-se considerar o tratamento térmico mínimo do suco de laranja, como sensorialmente satisfatório para um produto com vida de prateleira inferior a 34 dias em garrafas PEAD, sob refrigeração.

## 6. PROSSEGUIMENTO DO TRABALHO

Considerando-se a reconhecida influência do pH na cinética de inativação térmica da PE, poderiam ser realizados ensaios de pasteurização contínua do suco de laranja natural acidificado por meio da adição de ácido ascórbico ou ácido cítrico ao produto anteriormente ao processamento térmico. Os resultados destes ensaios poderiam ser utilizados pela indústria como artifício no controle do pH do suco processado.

Ainda em relação à cinética de inativação térmica, poderiam ser realizados estudos com a obtenção de um número superior à seis tempos de retenção para cada pH/temperatura de processamento, com a inclusão de tempos de retenção inferiores a 10 segundos. Desta forma seria possível a experimentação de outros modelos multicomponentes que contemplem a possibilidade da existência de um número maior de isoenzimas, superior aos dois grupos verificados neste trabalho.

Poderiam ser empregadas outras formas de processamento mínimo do suco de laranja que objetivem a inativação da pectinesterase sem causar grandes perdas nutricionais e sensoriais do produto, como por exemplo a utilização de microondas ou pulsos elétricos de alta intensidade, associados ou não à pasteurização mínima.

Também em relação ao processamento mínimo, poderiam ser estudadas outras temperaturas de pasteurização, obtendo-se desta forma o perfil dos parâmetros do modelo para uma faixa maior de temperaturas. Além disto poderiam ser verificadas as perdas sensoriais e nutricionais decorrentes do processamento térmico a diferentes temperaturas.

A análise sensorial para determinação da vida de prateleira poderia ser realizada em sucos de laranja com diferentes níveis de inativação da PE, como forma de adequar o processo de pasteurização mínima ao tempo de armazenamento do produto desejado.

Como os resultados da análise sensorial do atributo *cor* não se mostraram adequados, poderia ser realizada análise colorimétrica instrumental do suco de laranja. Desta forma poderiam ser avaliadas as alterações na cor do produto antes e depois do processamento e durante a vida de prateleira.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABECITRUS. **Sub produtos da laranja.** Disponível em: <<http://www.abecitrus.com.br/subprobr.html>>. Acesso em: abr. 2001.

ALBEROLA, J.; IZQUIERDO, L.J. The volatile fraction of orange juice: methods for extraction and study of composition. In: CHARALAMBOUS, G., ed. **Flavor of foods and beverages: chemistry and technology.** New York, Academic Press, p.283-304, 1987.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 16.ed. Washington, D.C., 1995, v.2.

ÁVILA, I.M.L.B.; SILVA, C. L. M. Modelling kinetics of thermal degradation of colour in peach puree. **Journal of Food Engineering**, v.39, p.161-166, 1999.

BABYLON. **What are pectinesterases.** Disponível em: <<http://www.babylon6.demon.co.uk/pe.html>>. Acesso em: dez. 1998.

BADOLATO, G.G. **Tratamento térmico mínimo do suco de laranja natural: cinética da inativação da pectinesterase.** 2000. 157p. Dissertação (Mestrado). Escola Politécnica, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2000.

CAMERON, R. G.; NIEDZ, R. P.; GROHMANN, K. Variable heat stability for multiple forms of pectinmethylesterase from citrus tissue culture cells. **J. Agric. Food. Chem.**, v.42, p.903-908, 1994.

CAMERON, R. G.; BAKER, R. A.; GROHMANN, K. Multiple forms of pectinmethylesterase from citrus peel and their effects on juice cloud stability. **Journal of Food Science**, v.63, n.2, p.253-255, 1998.

CARDELLO, H.M.A.B.; CARDELLO, L. Teor de vitamina C, atividade de ascorbato oxidase e perfil sensorial de manga (*Mangífera índica* L.) var. haden, durante o amadurecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.2, p.211-217, 1998.

CHAPLIN, M. Water structure and behaviour – pectin. Disponível em: <[www.sbu.ac.uk/water/hypec.html](http://www.sbu.ac.uk/water/hypec.html)>. Acesso em fev. 2003.

CHEN, C.S.; WU, M.C. Kinetic models for thermal inactivation of multiple pectinesterase in citrus juices. **Journal of Food Science**, v.63, n.5, p. 747-750, 1998.

COLLET, L.S.F.C.A.; SHIGEOKA, D.S.; BADOLATO, G.G.; TADINI, C.C. A kinetic study of inactivation of pectinesterase (PME) during continuous pasteurization of orange juice. In: **11<sup>th</sup> WORLD CONGRESS OF FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY**, Seoul, Coréia do Sul, 2001. Anais. Seoul, 2001.

CORRÊA NETO, R.S.; FARIA, J.A.F. Fatores que influem na qualidade do suco de laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.1, p.153-60, 1999.

CONTIN, F.A.; TADINI, C.C. Orange juice local transfer coefficient in plate heat exchanger determined experimentally during pasteurizing process. In: **11<sup>th</sup> WORLD CONGRESS OF FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY**, Seoul, Coréia do Sul, 2001. Anais. Seoul, 2001.

DELLA TORRE, J.C.M.; RODAS, M.A.B.; BADOLATO, G.G.; TADINI, C.C. Perfil Sensorial e aceitação de suco de laranja pasteurizado minimamente processado. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2003, no prelo.

DIXON, M.; WEBB, E. Effect of pH on inhibition. In: **Enzymes**. New York: Longman Group Ltd. 3a. Ed., p.368, 1979.

DONADIO, L.C. Doce e amargo: pesquisa define características de dezenas de variedades de laranja e amplia leque de escolha dos citricultores. **Notícias FAPESP**, v.45, 1999.

EAGERMAN, B.A.; ROUSE, A.H. Heat inactivation temperature-time relationships for pectinesterase inactivation in citrus juices. **Journal of Food Science**, v.41, p.1396-1397, 1976.

FAO. **FAOSTAT - Statistics Database**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: abr. 2002.

FARIA, E.V.; MORI, E.E.M.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de análise sensorial**. LAFISE/ITAL, Campinas, 2000. 103p.

FOX, P.F. Enzyme stability. In: **Food Enzymology**. England. Elsevier Science Publishers Ltd., v.2. p.40-45, 1991.

FUJIKAWA, H.; ITOH, T. Characteristics of a multicomponent first-order model for thermal inactivation of microorganisms and enzymes. **International Journal of Food Microbiology**, v.31, p.263-271, 1996.

FRUCHTSAFT. **VDF – Verband der Deutschen Fruchtsaft – Industrie**. Disponível em: <<http://www.fruchtsaft.de>>. Acesso em: ago. 2001.

GARCIA, A. (2000) Brazil Report. **National Juice Products Association – Mid-Year Meeting – 26-27, out – Orlando-Florida/USA**.

GOODNER, J.K.; BRADDOCK, R.J.; PARISH, M.E. Cloud stability of high pressure treated orange juice. In: **IFT'S 1998 Annual Meeting**. Atlanta, Georgia, 1998. Resumos. Atlanta, 1998.

HAN, Y., NIELSEN, S.S., NELSON P.E. Isolation of thermostabile and thermolabile orange pectinesterases. In: **IFT'S 1998 Annual Meeting**. Atlanta, Georgia, 1998. Resumos. Atlanta, 1998.

HATCHER, W.S.; WEIHE, J.L.; SPLITTSTOESSER, D.F.; HILL, E.C.; PARISH, M.E. Fruit beverages. In: VANDERZAN, C.; SPLITTSTOESSER, D.F., eds. **Compendium of methods for the microbiological examinations of foods**. 3.ed. Washington, American Public Health Association, p.953-960, 1992.

HOLLAND, R.R.; REEDER, K.; PRITCHER, D.E. Cloud stability test for pasteurized citrus juices. **Journal of Food Science**, v.41, p.812-815, 1976.

IPPA – INTERNATIONAL PECTIN PRODUCERS ASSOCIATION. **What is pectin?** Disponível em: <[www.ippa.info/what\\_is\\_pectin.htm](http://www.ippa.info/what_is_pectin.htm)>. Acesso em fev. 2003.

VALENTAS, K.J.; LEVINE, L.; CLARK, J.P. Orange Juice Case Study. In: **Food Processing Operation and Scale-up**, Marcel Decker Inc. p.209-222, 1991.

KIMBALL, D.A. **Citrus processing quality control and technology**. New York; Chapman & Hall-ITP, 1991.

KÖRNER, B.; ZIMMERMANN, G.; BERK, Z. Orange pectinesterase: purification, properties and effect on cloud stability. **Journal of Food Science**, v.45, p.1203-1206, 1980.

LD CITRUS Orange Processing Industry. **Louis Dreyfus Citrus**. Disponível em: <<http://www.ldcirus.com>>. Acesso em: ago. 2001.

LEE, H.S.; COATES, G.A. Vitamin C in frozen, fresh squeezed, unpasteurized, polyethylene-bottled orange juice: a storage study. **Food Chemistry**, v.65, Issue 2, p.165-168, 1999.

MARQUES, A.C.; TADINI, C.C. Distribuição de temperatura em um trocador de calor tipo placas. In: **SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USP, 7 - SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA - USP, 1.**, São Paulo, 1999. Resumos. São Paulo: USP, 1999, v.2, p.264.

MARSHALL, M.R.; MARCY, J.E.; BRADDOCK, R.J. Effect of solids level on heat inactivation of pectinesterase in orange juice. **Journal of Food Science**, v.50, p.220-222, 1985.

MATHIAS D.G.; TADINI, C.C. Desempenho térmico de um trocador de calor a placas. In: **SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USP, 6.**, São Paulo 1998. Resumos. São Paulo: USP, 1998, v.2, p.474.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**. Boca Raton: CRC Press, Inc., 1987. 281p.

MORRIS, A. The Orange Juice Production Process and Product Forms. **Morris Citrus Economics Newsletter**, v.1, Issue 8, 1996.

NEGRI, J. D. Citrus. **Citro News**, p.4-12, nov-dez 1999.

NETLIGHT. Alimento do mês: a laranja. **Netlight.com.br** Disponível em: <[www.netlight.com.br/2000/09/002.htm](http://www.netlight.com.br/2000/09/002.htm)>. Acesso em: jul. 2002.

NIKDEL, S.; CHEN, C.S.; MICKEY, E.P.; DONALD, G.M.; FRIEDRICH, L.M. Pasteurization of citrus juice with microwave energy in a continuous-flow unit. **J. Food Chem.**, v.41, p.2116-2119, 1993.

OLIVEIRA, R. Exportação de suco deve bater recorde. **Folha de São Paulo**, 15 jun. 1999, Agrofolha, p.1.

PEACOCK, S. Predicting physical properties of factory juices and syrups. **International Sugar Journal**, v.37, n.1162, p.571-577, 1995.

PETERSEN, M.A.; TONDER, D.; POLL, L. Comparison of normal and accelerated storage of commercial orange juice – changes in flavour and content of volatile compounds. **Food Quality and Preference**, v.9, n.1/2, p.43-51, 1998.

POLAKOVIC, M.; VRÁBEL, P. Analysis of the mechanism and kinetics of thermal inactivation of enzymes: critical assessment. **Process Biochemistry**, v.31(8), p.787-800. 1996.

PÓLO, E. Exportação de suco rende menos. **Valor Econômico**, 27 jul. 2001, Agronegócios, p. B-10.

REED, G. Effect of temperature and pH. In: **Enzymes in Food Processing**. London. Academic Press INC. Ltd. 2a. Ed., p.31-41, 1975.

ROUSE, A.H.; ATKINS, C.D. Heat inactivation of pectinesterase in citrus juice. **Food Technology**, v.6, n.8, p. 291-294, 1952.

ROUSE, A.H.; ATKINS, C.D. Further results from a study on heat inactivation of pectinesterase in citrus juice. **Food Technology**, v.6, n.8, p.221-223, 1953.

ROUSE, A.H. Distribution of pectinesterase and total pectin in component parts of citrus fruits. **Food Technology**, v.7, n.9, p.360-362, 1953.

- SHEEHAN, N. **How pectinase works.** Disponível em: <[http://www.enzymes.co.uk/answer24\\_pectinase.htm](http://www.enzymes.co.uk/answer24_pectinase.htm)>. Acesso em fev. 2003.
- SCHILLIND, A.; LEONHARDT, C. **Pectina.** Disponível em: <[www.pgie.ufrgs.br/portalead/unirede/tecvege/feira/pfruta/geleia/pectina.html](http://www.pgie.ufrgs.br/portalead/unirede/tecvege/feira/pfruta/geleia/pectina.html)>. Acesso em fev. 2003.
- SHIGEOKA, D.S. **Tratamento térmico mínimo do suco de laranja natural: Estudo da viabilidade de armazenamento em latas de alumínio.** 1999. 55p. Dissertação (Mestrado), Escola Politécnica, Universidade de São Paulo. São Paulo, 1999.
- SHOMER, R.; COGAN, U.; MANNHEIM, C.H. Thermal death parameters of orange juice and effect of minimal heat treatment on carbon dioxide on shelf-life. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.18, p.305-315, 1994.
- SILVA, E. Cana Rouba Espaço da Laranja. **Folha de São Paulo**, Agrofolha, 19 jun. 2001a, p.1.
- SILVA, E. Menor oferta já preocupa a indústria de suco. **Folha de São Paulo**, Agrofolha, 19 jun. 2001b, p.1.
- SNIR, R.; KOEHLER, P.E.; SIMS, K.A.; WICKER, L. Total and thermostable pectinesterases in citrus juices. **Journal of Food Science**, v. 61, n.2, p.379-382, 1996.
- SUGAI, A.Y.; SHIGEOKA, D.S.; BADOLATO, G.G.; TADINI, C.C. Análise físico-química e microbiológica do suco de laranja minimamente processado armazenado em lata de alumínio. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22 (3), p. 233-238, set.-dez. 2002.
- TADINI, C.C.; AOKI, I.V.; MELO, H.G.; SHIGEOKA, D.S. Estudo da corrosão da liga de alumínio 3004-H39 e dos parâmetros físico-químicos do suco de laranja natural pasteurizado em contato com a liga. In: **CONGRESSO IBEROAMERICANO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**, Valencia, Espanha, 1996. Anais. 1996a, Tomo III, p. 493-500.



TADINI, C.C.; AOKI, I.V.; MELO, H.G.; SHIGEOKA, D.S. Comportamento da liga de alumínio 3004 - H39, através de técnica gravimétrica, em suco de laranja natural e solução simulada. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.16, n.3, p. 223-227, out./dez. 1996b.

TADINI, C.C. **Estudo da transferência de calor em alimentos líquidos utilizando trocador de calor tipo placas**. 2000. 132p. Tese (Livre Docência) Escola Politécnica, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2000.

TOLEDO, R.T. **Fundamentals of Food Process Engineering**. Chapman & Hall. New York/ London, 1991.

TONDER, D.; PETERSON, M.A.; POLL, L.; OLSEN, C.E. Discrimination between freshly made and stored reconstituted orange juice using GC Odour profiling and aroma values. **Food Chemistry**, v.61, p.223-224, 1998.

TRIBESS, T.B.; TADINI, C.C. Suco de laranja natural minimamente processado: uma alternativa para ampliar o mercado de suco de laranja no Brasil. In: **III CONGRESSO INTERNACIONAL DE ECONOMIA E GESTÃO DE NEGÓCIOS AGROALIMENTARES**. Ribeirão Preto, 2001. Anais. Out.2001.

TRIBESS, T.B.; ROSSI, P.; TADINI, C.C. A influência do pH sobre a cinética de inativação térmica da pectinesterase no suco de laranja pasteurizado. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**. Porto Alegre, 2002. Anais. Porto Alegre, 2002.

VAN DEN BROECK, I.; LUDI KHUYZE, L.R.; VAN LOEY, A.; HENDRICKX, M.E. Inactivation of orange pectinesterase by combined high-pressure and temperature treatments: a kinetic study. **J. Agric. Food. Chem.**, v.48, p.1960-1970, 2000.

VERCET, A.; LOPEZ, P.; BURGOS, J. Inactivation of heat-resistant pectinmethylesterase from orange by manothermosonication. **J. Agric. Food. Chem.**, v.47, p.432-437, 1999.

VERSTEEG, C.; ROMBOOTS, F.M.; SPAANSEN, C.H.; PILNIK, W. Thermostability and orange juice cloud destabilizing properties of multiple pectinesterases from orange. **Journal of Food Science**, v.45, p.9690-9697, 1980.

YEOM, H.W.; STREAKER, C.B.; ZHANG, Q.H.; MIN, D.B. Effects of pulse electric fields on the quality of orange juice and comparison with heat pasteurization. **J. Agric. Food Chem.**, v.48, p.4597-4605, 2000a.

YEOM, H.W.; STREAKER, C.B.; ZHANG, Q.H.; MIN, D.B. Effects of pulse electric fields on the activities of microorganisms and pectin methyl esterase in orange juice. **J. Agric. Food Chem.**, v.65, p.1359-1363, 2000b.

YEOM, H.W.; ZHANG, Q.H.; CHISM, G.W. Inactivation of pectin methyl esterase in orange juice by pulsed electric fields. **J. Food Science**, v.67, p.2154–2159, 2002.

WELTI-CHANES, J.; WESCHE-EBELING, P.; LÓPEZ-MALO VIGIL, A.; ARGAIZ-JAMET, A. Minimally Processed High Moisture Fruit Products by Combined Methods: result of a Multinational Project. In: FITO, P.; ORTEGA-RODRIGUEZ, E.; BARBOSA-CANOVAS, G. **Food Engineering 2000**.1997.416p.

WICKER, L.; TENELLI, F. Heat inactivation of pectinesterase in orange juice pulp. **Journal of Food Science**, v.53, n.1, p.162-164, 1988.