KAIKY CESAR AMARO

**Efeito do tratamento térmico assistido por micro-ondas focalizadas sobre a
inativação enzimática, retenção da vitamina C e cor do suco de laranja Pera
(*Citrus sinensis* L. Osbeck)**

São Paulo

2020

KAIKY CESAR AMARO

**Efeito do tratamento térmico assistido por micro-ondas focalizadas sobre a
inativação enzimática, retenção da vitamina C e cor do suco de laranja Pera
(*Citrus sinensis* L. Osbeck)**

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

São Paulo
2020

KAIKY CESAR AMARO

**Efeito do tratamento térmico assistido por micro-ondas focalizadas sobre a
inativação enzimática, retenção da vitamina C e cor do suco de laranja Pera
(*Citrus sinensis* L. Osbeck)**

Versão Corrigida

(Versão original encontra-se na unidade que aloja o Programa
de Pós-graduação)

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

Área de concentração: Engenharia Química

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Carmen Cecília Tadini

São Paulo

2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Este exemplar foi revisado e alterado em relação à versão original, sob responsabilidade única do autor e com anuência de seu orientador.

São Paulo, dede 2020

Assinatura do autor

Assinatura do orientador

Catálogo-na-publicação

Amaro, Kaiky César

Efeito do tratamento térmico assistido por micro-ondas focalizadas sobre a inativação enzimática, retenção da vitamina C e cor do suco de laranja Pera (*Citrus sinensis* L. Osbeck) / K. C. Amaro -- versão corr. -- São Paulo, 2020.
103 p.

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

1.Cinética de inativação 2.Pectinametilesterase 3.Ácido ascórbico
4.Alteração de cor I.Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de Engenharia Química II.t.

*Dedico este trabalho a você, que embora tenha partido, permanece em meu
coração que por ti continua a bater. Eu te amo mãe.*

AGRADECIMENTOS

Ao bondoso Deus por ter me dado saúde e uma família que me cercou de apoio durante esta trajetória.

À Prof^a Dra. Carmen pela orientação, paciência e ensinamentos que foram fundamentais para meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Prof Dr. Eduardo Purgatto e a Lucia Helena do Laboratório de química, bioquímica e biologia molecular de alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP pela colaboração neste trabalho.

Aos meus pais, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Aos colegas de Laboratório de engenharia de alimentos (LEA), em especial Érica e Tiago, agradeço pelo apoio e incentivo durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos funcionários do LEA e do FoRC (processo Fapesp 2013/079148), por toda a ajuda.

À Fapesp (2014/175340), projeto relacionado a Avaliação dos efeitos do processamento por micro-ondas focalizadas sobre alimentos líquidos.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar o tratamento térmico por micro-ondas focalizadas sobre a inativação da enzima pectinametilesterase (PME) presente no suco de laranja. Para isto, o suco foi submetido ao aquecimento não isotérmico por micro-ondas focalizadas em um reator de síntese química no intervalo de temperatura entre (70 e 90) °C e tempo de exposição entre (0 e 180) s. Foram realizadas análises físico-químicas de caracterização do suco processado e não processado. Dos valores da atividade enzimática residual, do teor de ácido ascórbico, dos dados de cor e do histórico de temperatura obtido em tempo real, modelos cinéticos foram testados para descrever a cinética de inativação, de degradação do ácido ascórbico e alteração da cor com o tratamento térmico. Os resultados demonstram que o processamento térmico assistido por micro-ondas focalizadas foi efetivo na inativação enzimática da PME. O modelo de primeira ordem com duas frações foi o que proporcionou melhor ajuste aos dados experimentais. Os parâmetros cinéticos ajustados foram: $z = (10,6 \text{ e } 11,8) \text{ }^{\circ}\text{C}$ e $D_{90 \text{ }^{\circ}\text{C}} = (0,18 \text{ e } 32,8) \text{ s}$ para a fração termolábil e termorresistente, respectivamente, com α de 0,91 indicando 9 % de isoenzima termorresistente presente no suco. Não houve diferença significativa entre os valores de pH, acidez e teor de sólidos solúveis entre os sucos processado e não processado. O teor de ácido ascórbico diminuiu com o tempo de processamento, no entanto a retenção do nutriente não foi inferior a 85 %. Houve mudança perceptível na cor após o tratamento térmico, o qual resultou em um suco mais claro. O modelo fracional de primeira ordem foi o que melhor representou a cinética de degradação do ácido ascórbico e a diferença total de cor entre o suco processado e não processado. De forma geral, os resultados indicam que o aquecimento assistido por micro-ondas focalizadas é um processo com potencial para a pasteurização do suco de laranja.

Palavras chave: cinética de inativação, pectinametilesterase, ácido ascórbico, alteração de cor.

ABSTRACT

AMARO, K. C. **Effect of microwave-assisted thermal treatment on enzymatic inactivation, vitamin C retention and color of orange juice (*Citrus sinensis* L. Osbeck).** 2019. 100 f. Dissertation (Master of Science) – Escola Politécnica, University of São Paulo, São Paulo, 2019.

This work aimed to evaluate a focused microwave thermal treatment on enzymatic inactivation of pectin methyl esterase (PME) in orange juice. For this, the juice was submitted to non-isothermal heating by a focused microwaves on a chemical synthesis reactor at temperature range from (70 to 90) °C and exposed time between (0 and 180) s. Physicochemical analyses were performed to characterize processed and unprocessed juice. From the values of residual enzymatic activity and temperature history obtained in real time, kinetics models were tested to describe enzymatic inactivation kinetics, degradation kinetics of ascorbic acid, and color change due to thermal treatment. Results show that focused microwave assisted thermal processing was effective in enzymatic inactivation of PME. The first-order model of two-component provided a good fit to experimental data. The adjusted kinetic parameters were: $z = (10.6 \text{ and } 11.8) \text{ }^{\circ}\text{C}$ and $D_{90 \text{ }^{\circ}\text{C}} = (0.18 \text{ and } 32.8) \text{ s}$ for thermolabile and thermoresistant fraction, respectively, with α of 0.91 indicating 9 % of thermoresistant isoform in the juice. There were no significant differences in values of pH, acidity and soluble solids content between processed and unprocessed juice. Ascorbic acid content decreased with processing time, however nutrient retention was higher than 85 %. There was a perceptible color change after heat treatment, indicating that it led to a lighter juice. The fractional model of first-order provided a good fit to represent the degradation kinetics of ascorbic acid and total color difference between processed and unprocessed juice. Overall, the results indicated that microwave-assisted heating is a process with potential for orange juice pasteurization.

Keywords: inactivation kinetics, pectin methyl esterase, ascorbic acid, change color.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1.1 – Exportações brasileiras dos tipos de suco de laranja ao longo dos anos de 2002 até 2017	22
Figura 2.2.1 – Morfologia da laranja.....	23
Figura 2.3.1 – Atuação da pectinametilesterase sobre a molécula de pectina.....	26
Figura 2.3.2 – Exemplo da fórmula da pectina de alto e baixo grau de metoxilação.....	26
Figura 2.3.3 – Geleificação enzimática da pectina	27
Figura 2.8.1 – Espectro eletromagnético com especificações das frequências e comprimento de onda	40
Figura 2.8.2– Vista interna dos componentes de um <i>Magnetron</i>	41
Figura 2.8.3 - Nuvem de elétrons raiada.	42
Figura 2.8.4 – Mecanismo de rotação dipolar da molécula de água	42
Figura 2.8.5 – Esquema do aquecimento contínuo por micro-ondas	44
Figura 3.1.1 – Etapas do processamento da laranja: (a) sanitização, (b) seleção e (c) extração	48
Figura 3.2.1 – Reator de síntese química Discover Reflux (a) e esquema das micro-ondas na cavidade do reator (b)	49
Figura 3.2.2 – Esquema de uso do reator <i>Discover Reflux</i> da CEM Corporation com o balão de fundo redondo com a amostra inserida na cavidade.....	50
Figura 3.2.3 – Esquema de uso da fibra ótica e do balão de fundo redondo para aquisição do histórico de temperatura	50
Figura 3.3.1 – Diagrama CIELab indicando os parâmetros de cor L^* , a^* e b^*	54
Figura 4.2.1 – Exemplos de históricos de temperatura obtidos no aquecimento assistido por micro-ondas a 70 °C, em reator (CEM, Discover Reflux, EUA) do suco de laranja	61
Figura 4.2.2 - Históricos de temperatura obtidos durante o aquecimento assistido por micro-ondas de suco de laranja na condição experimental de 75 °C por 150 s de exposição	62
Figura 4.2.3 - Diagramas de paridade com erro de 10 %: atividade residual experimental ($PEUPEU0_{exp}$) versus a atividade enzimática	

predita pelo modelo de dois componentes ($PEUPEU0$ pred) (a) e em escala logarítmica (b).....	65
Figura 4.2.4 - Curva de inativação térmica da PME em suco de laranja a temperatura de referência de 90 °C. Atividade residual versus $F1$ (a) e logaritmo da atividade residual versus $F1$ (b)	66
Figura 4.2.5 - Diagramas de paridade com erro de 10 %: atividade residual experimental ($PMEU/PMEU0$ exp) versus a atividade enzimática predita pelo modelo de Gompertz ($PMEU/PMEU0$ pred) (a) e em escala logarítmica (b).....	67
Figura 4.2.6 - Atividade residual da PME em suco de laranja em função do tempo equivalente de processo a 90 °C em comparação da predição do modelo de Gompertz.....	68
Figura 4.2.7 - Diagramas de paridade com erro de 10 %: atividade residual experimental ($PMEU/PMEU0$ exp) versus atividade enzimática predita pelo modelo de Weibull ($PMEU/PMEU0$ pred) (a) e em escala logarítmica (b).....	69
Figura 4.2.8 - Atividade residual da PME em suco de laranja em função do tempo equivalente de processo a 90 °C em comparação a curva obtida pelo do modelo de Weibull	69
Figura 4.2.9 – Simulação da cinética de inativação da PME em suco de laranja pelo modelo com duas frações em diferentes temperaturas de referência	70
Figura 4.2.10 - Curvas de inativação térmica simuladas com os parâmetros cinéticos reportados na literatura a temperatura de referência de 85 °C.....	73
Figura 4.3.1 - Concentração do ácido ascórbico (AA) em suco de laranja durante o processamento térmico assistido por micro-ondas focalizadas a diferentes temperaturas em função do tempo de exposição.....	75
Figura 4.3.2 - Retenção do ácido ascórbico em suco de laranja, acrescido da predição do modelo de primeira ordem (a) e diagrama de paridade (b).....	76
Figura 4.3.3 - Retenção do ácido ascórbico em suco de laranja em comparação da predição do modelo fracional (a) e diagrama de paridade (b).....	77

Figura 4.3.4 - Retenção do ácido ascórbico em suco de laranja em comparação da predição do modelo de Weibull (a) e diagrama de paridade (b).....	78
Figura 4.3.5 Parâmetros de cor durante o tratamento térmico assistido por micro-ondas focalizadas do suco de laranja: (a) parâmetro L^* , (b) parâmetro a^* , (c), parâmetro b^*	80
Figura 4.3.6 - Tonalidade da cor do suco de laranja não processado e processo por micro-ondas focalizadas nos maiores tempo de exposição para cada temperatura alvo de processo.....	82
Figura 4.3.7 – Diferença de Croma entre o suco de laranja processado e não processado em comparação da predição do modelo de ordem zero (a) e diagrama de paridade (b)	83
Figura 4.3.8 - Diferença de Croma entre o suco de laranja processado e não processado em comparação da predição do modelo de primeira ordem (a) e diagrama de paridade (b)	84
Figura 4.3.9 - Diferença de Croma entre o suco de laranja processado e não processado em comparação da predição do modelo fracional (a) e diagrama de paridade (b).....	84
Figura 4.3.10 – Diferença total de cor entre o suco de laranja processado e não processado em comparação da predição do modelo de ordem zero (a) e diagrama de paridade (b)	85
Figura 4.3.11 - Diferença total de cor entre o suco de laranja processado e não processado em comparação da predição do modelo de primeira ordem (a) e diagrama de paridade (b)	86
Figura 4.3.12 – Diferença total de cor entre o suco de laranja processado e não processo em comparação da predição do modelo fracional (a) e diagrama de paridade (b).....	87
Figura 4.4.1 - Condições de tempo e temperatura para inativação térmica da PME e degradação do AA no suco de laranja	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.2.1– Tabela de composição de nutrientes da laranja <i>in natura</i>	24
Tabela 2.7.1 – Mecanismo de inativação, vantagens e desafios das principais tecnologias em alimentos líquidos	39
Tabela 3.2.1 – Condições de tempo de exposição e temperatura dos ensaios para o estudo da cinética de inativação da PME em suco de laranja.	51
Tabela 4.1.1 - Dados físico-químicas do suco de laranja não processado, comparados com os valores descritos na literatura para a variedade Pera.....	58
Tabela 4.1.2 - Atividade enzimática do suco de laranja não processado (PEU ₀) da variedade Pera em comparação ao relatado na literatura	60
Tabela 4.2.1 – Parâmetros cinéticos da enzima PME em suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de dois componentes a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2).....	62
Tabela 4.2.2 - Atividade enzimática da PME em função da temperatura, tempo de exposição e do tempo equivalente para isoforma termolábil (F_1) e termorresistente (F_2) a temperatura de referência de 90 °C.....	63
Tabela 4.2.3 - Parâmetros cinéticos da enzima PME em suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de Gompertz a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadráticos (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2).....	67
Tabela 4.2.4 - Parâmetros cinéticos da enzima PME em suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de Weibull a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadráticos (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2).....	68
Tabela 4.2.5 – Parâmetros cinéticos da inativação da PME em suco de laranja em diferentes temperaturas de referência (T_{ref}) frente aos reportados na literatura	71

Tabela 4.3.1 – Valores médios do pH, acidez titulável e teor de sólidos solúveis do suco processado em função da temperatura desejada.....	74
Tabela 4.3.2 – Parâmetros cinéticos do teor de ácido ascórbico do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de primeira ordem a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2).....	76
Tabela 4.3.3 - Parâmetros cinéticos do teor de ácido ascórbico do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo fracional de primeira ordem a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2).....	77
Tabela 4.3.4 - Parâmetros cinéticos do teor de ácido ascórbico do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de primeira ordem a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2).....	77
Tabela 4.3.5 - Parâmetros cinéticos da diferença de Croma do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de ordem zero a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2).....	83
Tabela 4.3.6 - Parâmetros cinéticos da diferença de Croma do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de primeira ordem a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2).....	83
Tabela 4.3.7 - Parâmetros cinéticos da diferença de Croma do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo fracional a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2).....	84
Tabela 4.3.8 - Parâmetros cinéticos da diferença total de cor do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de ordem zero a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2).....	85
Tabela 4.3.9 - Parâmetros cinéticos da diferença total de cor do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de primeira ordem a T_{ref} de 90 °C e	

respectivo valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2).....	85
---	----

Tabela 4.3.10 - Parâmetros cinéticos da diferença de cor do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo fracional a T_{ref} de 90 °C e respectivo valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2).....	86
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido ascórbico
AC	Ácido cítrico
AM	Ácido málico
FCOJ	Suco de laranja concentrado (do inglês Frozen concentrate orange juice)
NFC	Não concentrado (do inglês Not from concentrate)
RTS	Pronto para comer (do inglês Read to serve)
HTST	Alta temperatura com curto tempo (do inglês High temperature short time)
UHT	Temperatura ultra alta (do inglês Ultra high temperature)

LISTA DE SÍMBOLOS

A_0	Atividade enzimática inicial [U mL ⁻¹]
A	Atividade enzimática a qualquer tempo [U mL ⁻¹]
A_{res}	Atividade enzimática residual [U mL ⁻¹]
A_{∞}	Atividade enzimática residual após um longo período de processo [U mL ⁻¹]
AA	Teor de ácido ascórbico a qualquer tempo [mg 100 mL ⁻¹ de suco]
AA_0	Teor de ácido ascórbico inicial [mg 100 mL ⁻¹ de suco]
a^*	Parâmetro de cor que representa a cromaticidade (verde-vermelho) [-]
b^*	Parâmetro de cor que representa a cromaticidade (azul-vermelho) [-]
C	Valor de choma que representa a intensidade da cor [-]
Cr_0	Valor do parâmetro de cor no tempo zero [-]
Cr	Valor do parâmetro de cor a qualquer tempo [-]
Cr_{∞}	Valor do parâmetro de cor após um tempo prolongado de processo [-]
D_{ref}	Valor-D na temperatura de referência [s]
D	Tempo de redução decimal da atividade enzimática [s]
D_w	Parâmetro cinético de inativação térmica da distribuição de Weibull [s]
ΔE	Diferença total de cor [-]
F	Tempo necessário de processo isotérmico para atingir o valor de esterilização, tempo equivalente [s]
h	Ângulo hue da coloração [-]
k	Constante cinética de reação [s ⁻¹]
k_{max}	Constante cinética de inativação máxima [s ⁻¹]
L^*	Parâmetro de cor que representa a luminosidade total da cor [-]
L	Parâmetro cinético do modelo de Gompertz, “ <i>Sholder time</i> ” [s]
N	Normalidade [-]
$PMEU_0$	Unidade de atividade enzimática inicial da pectinametilesterase [U mL ⁻¹ °Brix ⁻¹]
$PMEU$	Unidade de atividade da enzima pectinametilesterase [U mL ⁻¹ °Brix ⁻¹]
$PMEU_{res}$	Unidade de atividade da enzima pectinametilesterase residual [U mL ⁻¹ °Brix ⁻¹]
$\dot{s}$	Taxa instantânea de inativação [s ⁻¹]
SS	Teor de sólidos solúveis [°Brix]

t	Tempo [s]
T	Temperatura [°C]
T_{ref}	Temperatura de referência do processo [°C]
V_a	Volume de amostra [mL]
V_s	Volume de solução [mL]
z	Variação da temperatura para provocar redução de 90 % no valor-D [°C]

Símbolos gregos

α	Fração da isoenzima termolábil [-]
β	Parâmetro de forma da curva do modelo de Weibull [-]

Subscritos

1	Fração termolábil da enzima
2	Fração termorresistente da enzima
i	Relativo ao instante t_i
ref	Na temperatura de referência

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1.2 OBJETIVO	20
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 ASPECTOS ECONÔMICOS	21
2.2 SUCO DE LARANJA	23
2.3 O PORQUÊ DE PROCESSAR O SUCO DE LARANJA	25
2.4 CINÉTICA DE INATIVAÇÃO ENZIMÁTICA	28
2.5 ISOFORMAS DA PECTINAMETILESTERASE	32
2.6 PROCESSAMENTO DO SUCO DE LARANJA	34
2.6.1 SUCO DE LARANJA CONCENTRADO CONGELADO	36
2.6.2 SUCO DE LARANJA PASTEURIZADO	36
2.6.3 SUCO DE LARANJA RECONSTITUÍDO	37
2.7 NOVAS TECNOLOGIAS NO PROCESSAMENTO DO SUCO DE LARANJA	37
2.8 PROCESSAMENTO TÉRMICO ASSISTIDO POR MICRO-ONDAS	40
2.8.1 EFEITOS NÃO TÉRMICOS	46
3. MATERIAIS E MÉTODOS	48
3.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA PRIMA	48
3.2 PROCESSAMENTO ASSISTIDO POR MICRO-ONDAS	48
3.3 CARACTERIZAÇÃO DO SUCO DE LARANJA	51
3.3.1 TEOR DE ÁCIDOS ORGÂNICOS	52
3.3.2 ANÁLISE DA ATIVIDADE DA ENZIMA PECTINAMETILESTERASE (PME)	52
3.3.3 ANÁLISE DE COR	53
3.4 TRATAMENTO DOS DADOS	54
3.4.1 CINÉTICA DE INATIVAÇÃO DA ENZIMA PME	55
3.4.2 CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO	56
3.4.3 EFEITO DO TRATAMENTO TÉRMICO SOBRE A COR	57
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
4.1 CARACTERÍSTICAS DO SUCO DE LARANJA NÃO PROCESSADO	58
4.1.1 ATIVIDADE ENZIMÁTICA	59
4.2 ESTUDO DA CINÉTICA DE INATIVAÇÃO DA PME	60

4.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO SUCO DE LARANJA PROCESSADO	73
4.3.1 PH, ACIDEZ E TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS	73
4.3.2 ÁCIDOS ORGÂNICOS	74
4.3.3 COR DO SUCO DE LARANJA	79
4.4 CONDIÇÕES DE PROCESSAMENTO DO SUCO DE LARANJA	87
5. CONCLUSÕES	89
REFERÊNCIAS	90
APÊNDICES	102
APÊNDICE A – Ácidos orgânicos do suco de laranja processado em cada binômio de tempo-temperatura	102
APÊNDICE B – Parâmetros de cor do suco de laranja em cada binômio de tempo-temperatura	103

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de laranjas do mundo e também o maior exportador do suco da fruta, responsável por cerca de 60 % da produção mundial de suco de laranja (USDA, 2017). Nos últimos anos, porém, houve uma queda nas exportações do suco de laranja, pois os sucos naturais e integrais estão ganhando mercado, evidenciando uma mudança no hábito dos consumidores, que passaram a preferir produtos saudáveis, saborosos e naturais (TETRA PAK, 2017).

Por se tratar de um produto importante para o Brasil e o mundo, e considerando o cenário atual, é preciso elaborar ferramentas e metodologias para o desenvolvimento de novos processos de industrialização, a fim de produzir um alimento com alta qualidade nutricional e sensorial a um custo razoável.

O processamento de alimentos é realizado com a finalidade de estender a vida de prateleira e produzir um produto seguro aos consumidores. Assim, o tratamento térmico é empregado por diversas razões, sendo a principal a inativação de enzimas e microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes (AWUAH; RAMASWAMY; ECONOMIDES, 2007; LEWIS; HEPPELL, 2000).

A pasteurização realizada sob aquecimento contínuo em trocadores de calor é o tratamento térmico convencionalmente empregado ao suco de laranja, sendo a enzima pectinametilesterase o indicador biológico da eficácia do processamento. No entanto, este processo causa alterações sensoriais e nutricionais no suco, o que compromete a aceitação do produto final (AWUAH; RAMASWAMY; ECONOMIDES, 2007; CITRUSBR, 2015).

Dessa forma, estudos na literatura relatam o emprego de tecnologias alternativas como: aquecimento ôhmico, por micro-ondas, radiofrequência e sistemas de alta pressão para melhorar, complementar ou até mesmo substituir o processamento térmico convencional (AGHAJANZADEH; ZIAIIFAR, 2018).

O aquecimento por micro-ondas tem diversas aplicações na indústria de alimentos, pois possui uma série de vantagens em relação ao aquecimento convencional, como: aquecimento rápido e volumétrico, redução do tempo de processamento, maior eficiência energética e melhora a retenção das qualidades sensoriais e nutricionais do alimento (CHANDRASEKARAN; RAMANATHAN; BASAK, 2013). Por isso, o tratamento térmico de alimentos líquidos assistido por micro-ondas é uma tecnologia alternativa para o processamento do suco de laranja

e tem mostrado uma maior inativação enzimática e menores perdas nos atributos de qualidade frente ao tratamento térmico convencional (AGHAJANZADEH; ZIAIIFAR, 2018).

Na literatura, a maioria dos estudos envolvem aplicação de micro-ondas não focalizadas por meio de forno de micro-ondas doméstico adaptado para a pasteurização em fluxo contínuo (DEMIRDÖVEN; BAYSAL, 2016; NIKDEL et al., 1993; TAJCHAKAVIT; RAMASWAMY, 1995, 1997b) e em batelada (CINQUANTA et al., 2010; IGUAL et al., 2010; TAJCHAKAVIT; RAMASWAMY, 1997a) de suco de laranja. Recentemente, Brugos, Gut e Tadini (2018) aplicaram micro-ondas focalizadas para o processamento do suco de laranja da variedade Pera em condições similares a este estudo, porém não foi contemplado o impacto do processo sobre a qualidade global do suco.

1.2 OBJETIVO

Considerando o texto apresentado na seção anterior, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o tratamento térmico assistido por micro-ondas focalizadas sobre a inativação da enzima pectinametilesterase (PME) presente no suco de laranja. Para atingir tal objetivo, as seguintes etapas do trabalho são propostas:

- Submeter o suco de laranja a diferentes binômios de tempo e temperatura.
- Obter o histórico de temperatura em tempo real.
- Descrever a cinética de inativação da enzima PME presente no suco de laranja submetido ao tratamento térmico assistido por micro-ondas focalizadas em processo descontínuo.
- Avaliar a influência das condições de processo (tempo e temperatura) sobre as características físico-químicas, teor de ácido ascórbico e cor do suco de laranja.
- Propor modelos cinéticos para descrever a inativação enzimática, degradação do ácido ascórbico e alteração de cor do suco de laranja submetido ao tratamento térmico assistido por micro-ondas focalizadas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ASPECTOS ECONÔMICOS

A citricultura, cultivo de frutas cítricas, é um dos principais setores do agronegócio brasileiro. Dentro da cadeia citrícola, o suco de laranja é o principal produto responsável pela evolução e globalização do setor (ROSA et al., 2013).

O suco de laranja está entre os principais itens de exportação. O Brasil produz cerca de 35 % das laranjas do mundo e cerca de 50 % do suco da fruta, em que exporta mais de 90 %, por isso estima-se que a cada cinco copos de suco de laranja consumidos no mundo, três são produzidos no Brasil (NEVES et al., 2010; TETRA PAK, 2017).

O principal destino do suco de laranja é a Europa, com aproximadamente 65 % da exportação brasileira, seguida pelos EUA (20 %), Japão (5 %) e China (3 %) (SECEX, 2018). Porém, ao analisar os países separadamente, os EUA se tornam o maior importador do suco de laranja brasileiro, pois, apesar de também ser um dos principais produtores, são capazes de atender cerca de 75 % do seu mercado (LDC, 2016).

Até o fim da década de 70, o estado da Flórida foi o maior produtor e processador de laranja. Nessa época, os EUA eram o maior consumidor de suco de laranja do mundo, mas a geada que atingiu o estado em 1962 causou danos na produção norte-americana, o que foi um grande impulso para a indústria cítrica brasileira, que já exportava laranja para a Europa. Assim, na década de 80, o Brasil se tornou o maior produtor de laranja e o principal exportador de suco e, desde então, o país possui a liderança mundial no setor (ROSA et al., 2013).

Dentre os tipos de suco produzidos destacam-se o FCOJ (*Frozen Concentrated Orange Juice*, “suco de laranja concentrado congelado”), o NFC (*Not-From-Concentrate*, “Não Concentrado”) que representa o suco processado, e o RTS (*Ready To Serve*, “Natural fresco”), cuja produção está centrada no estado de São Paulo. Apesar de o Brasil ser o maior produtor e exportador do suco FCOJ, o consumo do suco no país se dá principalmente na forma de NFC e RTS, visto que o consumidor brasileiro está habituado ao consumo do suco natural fresco com características sensoriais superiores (NEVES et al., 2010).

Nos últimos anos se tem observado uma queda na exportação (Figura 2.1.1), em que o Brasil exportou pouco mais de 1 milhão de toneladas do suco. Segundo Neves e Trombin (2016), no ano de 2015 foram produzidas 1,938 milhões de toneladas de suco de laranja e pela primeira vez na história o mundo demandou menos de dois milhões.

Figura 2.1.1 – Exportações brasileiras dos tipos de suco de laranja ao longo dos anos de 2002 até 2017

Amarelo representa o suco FCOJ, e marrom o suco NFC.

Fonte: SECEX, 2018.

A queda no consumo deve-se à oferta crescente de bebidas não alcoólicas mais baratas, de menor conteúdo calórico (NEVES; TROMBIN, 2011). Apesar da queda do consumo mundial, o grupo de países conhecido como Brics (Brasil, Rússia, Índia, China e África do Sul) e o México elevaram seu consumo em 64 % no período de 2003 a 2015 (NEVES; TROMBIN, 2016). Além disso, na Figura 2.1.1, pode-se notar que houve aumento na exportação do suco NFC, o que evidencia uma mudança de hábito do consumidor, que pode estar relacionado ao fato do suco reconstituído apresentar qualidade inferior ao suco pasteurizado.

Segundo a pesquisa internacional encomendada pela Tetra Pak e publicada na revista CitrusBR em maio de 2017, os sucos naturais integrais prontos para consumo estão ganhando mercado em relação aos sucos reconstituídos, refletindo uma tendência para os produtos naturais e minimamente processados. Ainda segundo a mesma pesquisa, a laranja permanece como o sabor preferido entre os

consumidores: foram 6,9 bilhões de litros vendidos em 2015, fatia de 46 % do mercado de sucos naturais (TETRA PAK, 2017).

Com relação ao mercado interno de sucos integrais industrializados, entre 2012 e 2015 o consumo de suco natural em caixinhas no Brasil subiu de 167 milhões para 361 milhões de litros, ainda assim o consumo per capita é relativamente baixo. Comparando o consumo per capita do suco de laranja no Brasil, de 1,63 L, com o dos EUA, maior consumidor mundial, de 10,17 L, e da Alemanha, de 9,7 L, maior consumidor da Europa, mostra que ainda há muito espaço para o crescimento desse mercado (NEVES; TROMBIN, 2016; TETRA PAK, 2017).

2.2 SUCO DE LARANJA

A laranja é uma fruta produzida pela laranjeira (*Citrus sinensis*), uma árvore da família Rutaceae originária da Ásia, e é uma das frutas mais produzidas em todo o mundo. A fruta é composta pelo flavedo, parte externa e colorida da casca, pelo albedo, parte interna esbranquiçada e esponjosa, e pelos gomos, que são revestidos por uma membrana preenchida por pequenos sacos de suco e sementes, que podem ser observados na Figura 2.2.1 (LADANIYA, 2008).

Fonte: Adaptado de Esperança (2016)

Considerado uma excelente fonte de vitamina C e uma bebida de baixo teor calórico (Tabela 2.2.1), o suco natural de laranja contém açúcares, ácidos, vitaminas, minerais, pectina entre outros. Um copo de suco de laranja corresponde a uma porção da fruta. Além disso, uma dieta rica em frutas cítricas pode ajudar na

prevenção do desenvolvimento de doenças crônicas, cardiovasculares e vários tipos de cânceres, pois proporciona melhoria no estado oxidativo e imunológico devido à presença de compostos antioxidantes, como carotenoides e vitaminas (FRATIANNI; CINQUANTA; PANFILI, 2010; MANJATE; NESSER; CÉSAR, 2013).

Igual et al. (2010) afirmaram que há um grande número de estudos epidemiológicos *in vitro* e *in vivo* que mostram que o consumo de frutas cítricas geralmente é bom para a saúde e contribui para prevenir processos degenerativos, particularmente diminuindo a incidência e a mortalidade, taxa de câncer e doenças cardiovasculares e cerebrovasculares.

Tabela 2.2.1– Tabela de composição de nutrientes da laranja *in natura*

Componente	Valor por 100 g de fruta
Energia	191 kJ
Umidade	87,7 g
Carboidrato total	10,9 g
Proteína	0,91g
Lipídios	0,25 g
Fibra Alimentar	2,02 g
Cinzas	0,41g
Cálcio	30 mg
Ferro	0,12 mg
Sódio	0,54 mg
Magnésio	10,9 mg
Fósforo	20,2 mg
Potássio	160 mg
Vitamina C	47,4 mg

Fonte: TBCA, 2017.

Existem mais de mil variedades de laranja, que diferem em tamanho, cor, teor de açúcares, acidez, época da colheita, entre outras características. Uma laranja adequada para produção de suco industrial possui qualidades bem definidas, sendo as mais importantes o rendimento de suco, *ratio* (razão entre sólidos solúveis e acidez), cor e sabor (DONADIO, 1999). A cor da fruta e do suco é o primeiro fator de qualidade que o consumidor aprecia, pois está relacionado à percepção do

consumidor sob doçura, sabor e outras características de qualidade das frutas cítricas (TEPPER, 1993; CORTÉS; ESTEVE; FRÍGOLA, 2008).

A maioria da produção de suco do estado de São Paulo resulta de quatro variedades: Hamlin, Pera, Valência e a Natal. Destaque à laranja Pera (*Citrus sinensis* L. Osbeck) que se destina ao mercado interno e externo, e é considerada a melhor variedade para produção de suco (DONADIO et al., 1999; FUNDECITRUS, 2018).

A laranja Pera é uma variedade de porte médio, forma física oval, com casca de espessura fina e lisa, peso em torno de 145 g sendo 52 g de suco e *ratio* entre 12,94 e 20,75. O suco é de cor laranja vivo com *score* entre 36,9 a 37,3, pH médio de 3,8, acidez de 0,95 g de ácido cítrico/100 g e teor de sólidos solúveis em torno de 11,8 ° Brix (CITRUSBR, 2015; DONADIO, 1999).

2.3 O PORQUÊ DE PROCESSAR O SUCO DE LARANJA

O suco de laranja é definido pelo Ministério da Agricultura como uma bebida não fermentada e não diluída, obtida da parte comestível da laranja através de processo tecnológico adequado (BRASIL, 2000). Para Corrêa Neto e Faria (1999), o suco de laranja é um produto complexo extraído do fruto da laranjeira por processo tecnológico adequado, que assegura a apresentação e comercialização do suco até o momento do consumo. O suco é composto pela combinação de vários componentes orgânicos voláteis e instáveis, além dos açúcares, ácidos, sais minerais, vitaminas e pigmentos.

A qualidade do suco pode ser influenciada por diversos fatores, basicamente: enzimáticos, químicos, físicos e microbiológicos, que comprometem suas características sensoriais e nutricionais (CORRÊA NETO; FARIA, 1999; SILVEIRA; BERTAGNOLLI, 2012). Estas alterações estão suscetíveis de ocorrerem nas etapas de processamento, armazenamento e distribuição, e irão influenciar a segurança e a vida de prateleira do suco.

Devido à característica ácida do suco de laranja, o crescimento de microrganismos patogênicos é dificultado (CINQUANTA et al., 2010). No entanto, a deterioração está associada à proliferação de bactérias lácteas, leveduras e fungos que irão conferir sabor indesejável ao suco (CORRÊA NETO; FARIA, 1999; SILVEIRA; BERTAGNOLLI, 2012).

A enzima de maior interesse no processamento de sucos cítricos é a enzima pectinametilesterase (PME), presente em grande quantidade nas frutas cítricas, responsável pela hidrólise do éster presente na pectina liberando metanol e, consequentemente, a convertendo de alto para baixo grau de metoxilação (Figura 2.3.1) (DUVETTER et al., 2009; MANMOHIT KALIA, 2015; VAN DEN BROECK et al., 1999).

Figura 2.3.1 – Atuação da pectinametilesterase sobre a molécula de pectina

Fonte: Adaptado de Gonzalez e Rosso (2011).

Pectinas são formadas por uma cadeia linear de unidades de ácidos D-galactopiranosilurônico unidas em α (1 $\rightarrow$ 4), encontradas na parede celular de todas as plantas. De acordo com a fonte da pectina, os grupos carboxila estão sob a forma de ácido livre, éster metílico ($-\text{COOCH}_3$) ou neutralizado ($-\text{COO}^-\text{Na}^+$). Quando mais da metade dos grupos carboxila encontra-se sob a forma de éster metílico, diz-se pectina de alto grau de metoxilação, quando presentes em menos da metade, pectina de baixo grau de metoxilação (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Pode-se observar na Figura 2.3.2 que os grupos na cor azul estão esterificados e se encontram em maior proporção na pectina de alto grau de metoxilação.

Figura 2.3.2 – Exemplo da fórmula da pectina de alto e baixo grau de metoxilação

Fonte: Adaptado de SILVATEAM (2017).

Pectina de alto grau de metoxilação forma gel via ligações de hidrogênio, enquanto que a de baixo grau gelificam na presença de cátions bivalentes como Ca^{2+} formando pectato (Figura 2.3.3) (BENEN; VAN ALEBEEK; VORAGEN, 2003; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Figura 2.3.3 – Geleificação enzimática da pectina

Fonte: KIMBALL (1999).

Rouse (1953) estudou a concentração de pectina e a atividade da pectinametilesterase em diferentes variedades e partes da laranja; segundo o autor, as maiores quantidades de pectina foram encontradas no albedo, flavedo e nas membranas, enquanto que a maior atividade de PME foi encontrada nos sacos de suco, seguidos por membranas, flavedo e albedo. Estes fatos são importantes no processamento do suco de laranja, pois, na extração mecânica do suco, a membrana e os sacos de suco são rompidos e os componentes de alto peso molecular, como proteína, hesperidina, celulose, hemicelulose e pectina, estão suspensos. Essa suspensão coloidal conhecida como “nuvem”, responsável pela turbidez do suco, é uma característica desejável, que influencia o sabor e a cor do produto (AGHAJANZADEH et al., 2016; DEMIRDÖVEN; BAYSAL, 2016; KIMBALL, 1999).

As enzimas PME liberadas despolimerizam a pectina, que na presença de íons de cálcio e por força eletrostática permite a interação com as proteínas, ocasionando a precipitação da “nuvem” e consequentemente alterações de cor, sabor e aroma do suco. Logo, a inativação da enzima PME é necessária no

processamento do suco de laranja (BENEN; VAN ALEBEEK; VORAGEN, 2003; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; VAN DEN BROECK et al., 1999).

O processamento térmico convencional é o método mais comum para inativar a PME e prevenir a precipitação da nuvem, além de controlar o crescimento microbiológico no suco de laranja (DEMIRDÖVEN; BAYSAL, 2016).

Como a PME possui resistência térmica maior que a dos microrganismos deteriorantes existentes no suco, sua inativação serve como indicador para definir a qualidade e os parâmetros do processamento térmico ao qual o suco é submetido (AGHAJANZADEH et al., 2016; CINQUANTA et al., 2010; DEMIRDÖVEN; BAYSAL, 2016; FRATIANNI; CINQUANTA; PANFILI, 2010; TAJCHAKAVIT; RAMASWAMY, 1997a).

Portanto, a fim de prolongar a vida de prateleira e garantir a retenção das características sensoriais e nutricionais do produto até o momento de seu consumo, faz-se necessário o processamento do suco de laranja, cujo indicador biológico é a enzima pectinametilesterase.

2.4 CINÉTICA DE INATIVAÇÃO ENZIMÁTICA

A eficácia de um processo térmico é determinada por um indicador biológico (população de microrganismos, atividade enzimática ou concentração de nutrientes) presente no alimento. A eficácia pode ser predita e avaliada através dos parâmetros cinéticos.

De acordo com Anantheswaran e Ramaswamy (2001), a cinética de inativação enzimática, em temperatura constante, pode ser descrita pela equação de taxa de reações químicas, expressa pela atividade enzimática (A) em função do tempo de processamento (t), em que n é a ordem da reação e k a constante de reação:

$$\frac{dA}{dt} = -kA^n \quad (2.4.1)$$

A cinética de inativação enzimática geralmente segue o modelo de primeira ordem ($n = 1$), sendo possível calcular a mudança sobre A em um dado período de tempo, integrando a Eq. (2.4.1) e usando as condições iniciais $A = A_0$ em $t = 0$ (GUT; TADINI, 2016; TOLEDO, 2007):

$$\int_{A_0}^A \frac{dA}{A} = -k \int_0^t dt$$

$$\ln\left(\frac{A}{A_0}\right) = -kt \quad (2.4.2)$$

Na indústria de processamento de alimentos é comum representar a resistência térmica por meio dos valores de D e z . O valor- D é o tempo de redução decimal, tempo requerido para reduzir 90 % da concentração inicial do indicador biológico a uma dada temperatura (ANANTHESWARAN; RAMASWAMY, 2001; GUT; TADINI, 2016; TOLEDO, 2007). Considerando, $D = k/\ln(10)$ obtém-se a Eq. (2.4.3).

$$\log\left(\frac{A}{A_0}\right) = -\frac{t}{D} \quad (2.4.3)$$

O valor- z representa a dependência de D em relação à temperatura. Este parâmetro é definido como o intervalo de temperatura requerido para diminuir em 90 % o valor de D , representado matematicamente pela Eq. (2.4.4), no qual D_{ref} é o tempo de redução decimal conhecido a uma dada temperatura de referência T_{ref} (ANANTHESWARAN; RAMASWAMY, 2001; GUT; TADINI, 2016).

$$\log\left(\frac{D}{D_{ref}}\right) = -\frac{(T - T_{ref})}{z} \quad (2.4.4)$$

Quando a amostra está sujeita a um tratamento não isotérmico, é possível calcular o tempo necessário (F) para atingir certo grau de inativação pela integração do histórico de tempo-temperatura por meio da Eq. (2.4.5) (ANANTHESWARAN; RAMASWAMY, 2001).

$$F = \int_0^t 10^{\frac{(T-T_{ref})}{z}} dt \quad (2.4.5)$$

Assim, o histórico de tempo-temperatura pode determinar a inativação da enzima por meio da Eq. (2.4.5), e para isso procedimentos de integração numérica são utilizados, como, por exemplo, a regra dos trapézios e a de Simpson, sendo que as temperaturas reais medidas no aquecimento devem ser correspondentes à região mais lenta do produto (GUT; TADINI, 2016).

Aghajanzadeh et al. (2016) estudaram o suco de laranja *Sour* (*Citrus aurantium* L.) por tratamento térmico convencional em banho de água termostaticado. Os parâmetros cinéticos da enzima PME foram calculados da

letalidade obtida pela integração do histórico de tempo-temperatura: $D = 152,5$ min; 77,3 min; 49,5 min; e 22,1 min para as respectivas temperaturas: (60, 70, 80 e 90) °C, e z de 36,9 °C para a fração termorresistente.

Desvios da cinética de primeira ordem, podem ser causados pela presença de diferentes isoenzimas. Fujikawa e Itoh (1996) apresentaram modelo cinético multicomponente de primeira ordem para inativação de microrganismos e enzimas que leva em consideração a existência de mais de um indicador biológico de processo com diferentes resistências térmicas.

Chen e Wu (1998) propuseram o modelo cinético com duas frações, a partir da hipótese que o suco de laranja tem várias isoenzimas que podem ser separadas em dois grupos, um mais termorresistente que o outro, e ambos são inativados de acordo com a cinética de primeira ordem. O modelo é apresentado na Eq. (2.4.6), na qual α é a fração da atividade do grupo de isoenzimas termolábil em relação à atividade total no tempo t_0 . Os autores concluíram que este modelo foi mais preciso e confiável que o modelo de primeira ordem ao predizer a inativação térmica da PME em sucos cítricos.

$$\frac{A}{A_0} = \alpha \log \left(-\frac{t}{D_{\text{ref},1}} \right) + (1 - \alpha) \log \left(-\frac{t}{D_{\text{ref},2}} \right) \quad (2.4.6)$$

Van Den Broeck et al. (1999) avaliaram a inativação térmica da PME em primeira ordem por meio de um modelo de conversão fracional, no qual se leva em conta a atividade residual diferente de zero (A_∞) após um aquecimento prolongado (Eq. 2.4.7), e que a fração termolábil é inativada durante o processamento. Este modelo também pode ser utilizado para descrever o efeito do tratamento térmico sobre a cor de sucos (RODRIGO; VAN LOEY; HENDRICKX, 2007; WIBOWO et al., 2015).

$$A = A_\infty + (A_0 - A_\infty) \exp(-kt) \quad (2.4.7)$$

Outra abordagem tem sido considerada ao tratar a inativação como uma distribuição da atividade enzimática associada a diversos fatores tais como diferenças na intensidade do tratamento ou devido a uma resistência térmica heterogênea. Neste caso, a cinética de inativação térmica pode ser descrita pela distribuição de Weibull (Eq. 2.4.8). Com este modelo a curva da distribuição que dita o tempo de tratamento térmico pode ser interpretada como uma função cumulativa

da distribuição que dita o tempo de tratamento a qual a enzima irá falhar ao resistir, o que resulta na inativação (MAFART et al., 2001).

$$\log\left(\frac{A}{A_0}\right) = -\left(\frac{t}{D_w}\right)^\beta \quad (2.4.8)$$

O parâmetro β é o fator de forma e D_w é o tempo até a primeira redução decimal. O fator de forma define o formato da curva de inativação. No caso de $\beta < 1$ implica em uma curva com taxa decrescente de inativação, quando $\beta > 1$ representa curva com taxa crescente de inativação, e no caso de $\beta = 1$ corresponde ao modelo de primeira ordem (VAN BOEKEL, 2002).

De acordo com Mafart et al. (2001) e Van Boekel (2002) o parâmetro β aparenta ser independente da temperatura, e com isso o parâmetro D_w apresenta uma relação com a temperatura semelhante a Eq. 2.4.4, substituindo D por D_w .

Em um processo não isotérmico, a taxa instantânea de inativação $\dot{s}$ pode ser obtida ao derivar a Eq.(2.4.8) para obter a Eq.(2.4.9). Pode-se observar que $\dot{s}$ depende da temperatura (T) e do tempo (t). Entretanto o tempo está associado a atividade enzimática residual no respectivo instante (t), o que se observa na Eq.(2.4.10) obtida ao isolar t da Eq. (2.4.8).

$$\dot{s} = \left(\frac{d\left(\frac{A}{A_0}\right)}{dt} \right)_T = -\frac{\beta t^{\beta-1}}{D_w^\beta} \quad (2.4.9)$$

$$t = D_w \left(-\frac{A}{A_0} \right)^{\frac{1}{\beta}} \quad (2.4.10)$$

Substituindo a Eq.(2.4.10) na Eq.(2.4.9) tem-se a taxa de inativação logarítmica instantânea em função da temperatura e da atividade enzimática residual (Eq. 2.4.11).

$$\dot{s} = -\frac{\beta}{D_w} \left(-\log \frac{A}{A_0} \right)^{\frac{\beta-1}{\beta}} \quad (2.4.11)$$

No processamento não isotérmico a atividade residual pode ser calculada integrando a Eq.(2.4.11) ao longo do tempo de processo, assumindo temperatura constante em um pequeno intervalo de tempo dt (Eq. 2.4.12).

$$\log \frac{A}{A_0} = \int_0^t \dot{s} dt = -\int_0^t \frac{\beta}{D_w} \left(-\log \frac{A}{A_0} \right)^{\frac{\beta-1}{\beta}} dt \quad (2.4.12)$$

A solução matemática dessa equação (Eq. 2.4.12) está descrita numericamente na Eq.(2.4.13), em que a taxa de inativação é obtida pelo instante t_{i-1} para evitar um cálculo implícito de $\log\left(\frac{A}{A_0}\right)_i$ no instante t_i (CHEN; CAMPANELLA; CORVALAN, 2007).

$$\log \frac{A}{A_0} = - \sum_i \frac{\beta}{D_w} \left(\log \left(\frac{A}{A_0} \right)_{i-1} \right)^{\frac{\beta-1}{\beta}} \Delta t \quad (2.4.13)$$

Outro modelo capaz de descrever a cinética de inativação térmica é o modelo de Gompertz. Um modelo de três parâmetros capaz de descrever um comportamento sigmoidal completo ou incompleto (GIL et al., 2017). Este modelo tem sido modificado e empregado para descrever o crescimento e inativação microbiana em condições isotérmicas. O modelo de Gompertz modificado para descrever a inativação, é descrito na equação:

$$\log \frac{A}{A_0} = \log \left(\frac{A_{\text{res}}}{A_0} \right) \exp \left(- \exp \left(- \frac{k_{\text{max}} \exp(1)}{\log \left(\frac{A_{\text{res}}}{A_0} \right)} (L - t) + 1 \right) \right) \quad (2.4.14)$$

que descreve uma curva de inativação com três características, um período de tempo inicial (L) conhecido como ombro, seguido por um período de taxa de inativação máxima (k_{max}) que tende a um valor assintótico $\left(\frac{A_{\text{res}}}{A_0}\right)$, fração residual que não é inativada pelo processo térmico, referenciado como calda (GIL et al., 2011).

Generalizando, a letalidade integrada (Eq. 2.4.5) permite avaliar o tratamento térmico não isotérmico, e a partir desta com o emprego das Eq (2.4.3; 2.4.6; ou 2.4.7) pode-se avaliar e otimizar o processamento, assegurando a inocuidade e a qualidade do suco. Para o modelo de Weibull a partir do histórico de temperatura, pode-se empregar a Eq.(2.4.13) para avaliar e otimizar o processo.

2.5 ISOFORMAS DA PECTINAMETILESTERASE

Múltiplas isoformas da PME têm sido relatadas para frutas cítricas. Estas isoenzimas possuem diferentes resistências térmicas, massa molar, ponto isoelétrico e propriedades catalíticas (AGHAJANZADEH; ZIAIIFAR, 2018; BENEN; VAN ALEBEEK; VORAGEN, 2003; DUVETTER et al., 2009; MANMOHIT KALIA, 2015). Geralmente a massa molar varia de (25 a 54) kDa e o pH ótimo entre 6 e 8

(AGHAJANZADEH; ZIAIFAR, 2018; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; DUVETTER et al., 2009).

Han, Nielsen e Nelson (2000) identificaram sete possíveis isoformas de PME obtidas da casca da laranja da variedade Valencia por cromatografia e eletroforese, como P1, P2, P3, P4, P5, P6 e P7. Os autores estudaram a termoestabilidade e a atividade enzimática destas isoformas. As isoformas P1, P2 e P3, com suas respectivas massas molares, 70 kDa, 60 kDa e 27 kDa foram as mais termorresistentes. As isoformas P4 a P7, todas com aproximadamente 35 kDa, foram sensíveis ao calor. Foi observado que 83,4 % foi inativado a 70 °C por 5 min e 98,3 % a 90 °C por 1 min, sendo que a isoforma P2 foi a que apresentou maior termorresistência: 85,5 % de inativada a 70 °C por 5 min e 93 % a 90 °C por 1 min.

Cameron, Baker e Grohmann (1998) analisaram a casca (albedo e flavedo) da laranja Valencia empregando metodologia semelhante à de Han, Nielsen e Nelson (2000) e observaram a ocorrência de quatro isoformas da PME (quatro picos no cromatograma), das quais apenas uma demonstrou ser termorresistente (PME3). A contribuição de cada isoforma para a atividade total da PME foi de 6,0 % da PME1, 63,1 % da PME2, 7,9 % da PME3 e 22 % da PME4. Os autores analisaram também o efeito de cada isoenzima sobre a nuvem do suco a (30 e 4) °C, sendo que a 30 °C a perda da nuvem foi rápida, no 3º dia a PME1 havia precipitado toda a nuvem e as isoformas PME2 e PME3 tiveram efeito semelhante, porém menos acelerado. A 4 °C, a PME3 foi a que desestabilizou a nuvem de forma mais acelerada, seguida pela PME2. A PME4 não teve efeito sobre a nuvem do suco a 30 °C nem a 4 °C. Assim, os resultados indicam que as diferentes isoformas podem atuar de modo diferente.

No estudo de Versteeg et al. (1980) sobre a laranja da variedade Navel, houve evidência eletroforética da existência de pelo menos cinco isoformas da PME. Neste estudo verificou-se também que a isoforma de alto peso molecular é responsável por 5 % da atividade enzimática total, sendo necessário pasteurizar por 48 s a 90 °C para inativar 99 % da PME de alto peso molecular.

O número e as diferentes propriedades das várias formas presentes da enzima PME dependem da sua origem biológica, da variedade do fruto, das condições de cultivo, dos métodos de extração e das condições do tratamento térmico (DUVETTER et al., 2009; HAN; NIELSEN; NELSON, 2000).

Com isso, a inativação da PME leva a um desvio da cinética de 1ª ordem, que está relacionada à existência das várias isoformas, que apresentam diferentes resistências térmicas e são inativadas gradualmente durante o processo (AGHAJANZADEH; ZIAIIFAR, 2018; TAJCHAKAVIT; RAMASWAMY, 1997a). Assim, para o estudo da cinética de inativação da PME é considerada a existência de dois grupos de isoformas, um sensível ao calor, chamado de termolábil, que é responsável pela formação da curva inicial e outro resistente ao calor, comumente chamado de termoestável, responsável pela parte final da cinética, com menor coeficiente angular (AGHAJANZADEH et al., 2016; CAMERON; BAKER; GROHMANN, 1998; HAN; NIELSEN; NELSON, 2000; HOU et al., 1997; TAJCHAKAVIT; RAMASWAMY, 1997a).

Apesar das isoenzimas termoestáveis representarem uma fração mínima da atividade total nas frutas cítricas, elas são as mais ativas no suco gelado e as responsáveis pela necessidade de um tratamento térmico mais severo (HOU et al., 1997).

Tajchakavit e Ramaswamy (1997) estudaram a cinética de inativação térmica da PME em suco de laranja reconstituído e adicionado de PME cítrica comercial, e identificaram duas frações da PME, a termolábil e a termoestável com valores de z igual a (17,6 e 31,1) °C, respectivamente. Os valores de D a 90 °C foram de 2,8 s para a fração sensível ao calor e 109,3 s para a fração resistente.

No trabalho de Wicker e Temelli (1988) com o suco de laranja da variedade Valencia, a cinética de inativação apresentou comportamento não linear, identificando também a existência de dois grupos da PME com valor de D a 90 °C de 0,225 s e valor de z de 10,8 °C para a fração termolábil e 32 s e 6,5 °C para a fração termoestável.

2.6 PROCESSAMENTO DO SUCO DE LARANJA

O suco de laranja industrializado pode ser apresentado ao consumidor em três formas: integral, concentrado e reconstituído. O suco de laranja concentrado congelado é o principal do mercado, utiliza 72 % da produção nacional de laranjas, sendo quase totalmente voltado para exportação (CITRUSBR, 2015).

Quando as laranjas apresentam uma relação satisfatória entre o teor de açúcares e sua acidez, indicando que estão maduras o suficiente para serem

colhidas dá-se início ao processo de colheita. Segundo Donadio (1999), o processamento pode começar com um *ratio* entre 12 e 13, porém o preferido pela indústria é entre 15 e 18.

As laranjas colhidas manualmente são transportadas em caminhões até a indústria, onde se dá prosseguimento, de maneira geral, às seguintes etapas (CITRUSBR, 2015):

Recebimento da fruta: amostras das frutas são retiradas para análise de alguns parâmetros de qualidade, como pH, teor de sólidos solúveis, acidez, cor, entre outros, que irão influenciar no planejamento da produção.

Armazenamento em silos: as frutas são armazenadas em silos de estocagem de acordo com suas características teor de sólidos solúveis (°Brix), *ratio* e variedade, onde aguardam pelo processamento.

Lavagem dos frutos: os frutos retirados dos silos passam por mesas de lavagem mecânica, no qual a sanitização é feita por meio de esguichos e escovas de plástico na área inferior, com ou sem o auxílio de detergentes. Segundo Silva (2016), a lavagem em água corrente de frutas e hortaliças pode reduzir em até 90 % o número de microrganismos presentes.

Seleção e classificação: as frutas impróprias são retiradas manualmente das mesas de seleção, em seguida as demais seguem para classificadores que as separam por tamanho e as encaminham para as linhas de extração.

Extração: o suco é extraído em máquinas extratoras, adequadas ao tamanho das frutas, no qual em uma única etapa o suco, a casca e o bagaço são separados. O bagaço segue para outro setor que dará origem a dois subprodutos: D'limoneno que é utilizado na fabricação de solventes, resinas e outros, e o *pellet* de polpa cítrica que é utilizado como componente da ração animal. A casca junto com a emulsão água-óleo liberado na extração, são reaproveitados para obtenção de óleo essencial e também na fabricação de *pellet* de polpa cítrica (MUNHOZ; MORABITO, 2010).

Finishers: nesta etapa o suco passa por uma peneira para retirar resíduos da extração, como sementes e gomos da polpa, em seguida é centrifugado para padronizar o teor de polpa. A polpa excedente dará origem a outros subprodutos a “*pulp wash*” lavagem da polpa com água, gerando um suco de qualidade inferior que posteriormente é concentrado e “*Frozen orange cell*” utilizado na produção de sucos

com gominhos e também pode ser utilizada na produção dos *pellets* de polpa cítrica (MUNHOZ; MORABITO, 2010).

A partir deste ponto emprega-se um tratamento térmico e o processo se divide entre os diferentes tipos de suco. O processamento térmico é o método utilizado para preservação dos alimentos por meio da inativação de enzimas e microrganismos. Diversos processos como a pasteurização, evaporação e esterilização comercial são dimensionados para causar o menor dano possível à qualidade do alimento (FELLOWS, 2006).

2.6.1 Suco de laranja concentrado congelado

O suco segue para evaporadores em estágios especialmente projetados para a indústria de citros, em que é empregado vácuo com o intuito de provocar a evaporação da água sem a necessidade de expor o produto a altas temperaturas. Os componentes voláteis (fase oleosa e aquosa) são recuperados e, ao fim do processo, o suco que entrou com teor de sólidos solúveis de (10 a 11) °Brix sai com um teor de (65 a 66) °Brix. Nesta etapa o suco também é pasteurizado para eliminação da maior parte da flora microbiana e inativação de enzimas como a pectinametilesterase (CITRUSBR, 2015).

O suco concentrado é resfriado e homogeneizado, pois são adicionadas essências recuperadas da evaporação e outras quantidades de suco concentrado para alcançar um padrão de qualidade ideal. Esta etapa é comumente chamada de *Blender*. Em seguida o suco é resfriado até sua temperatura de armazenamento (CITRUSBR, 2015).

2.6.2 Suco de laranja processado

Após a etapa de *finisher*, o suco de laranja passa por um tratamento térmico que atualmente é feita de duas maneiras: processo UHT (do inglês *Ultra High Temperature*), e o processo HTST (do inglês *High Temperature Short Time*), ambos em trocadores de calor (CITRUSBR, 2015; FELLOWS, 2006).

O processo UHT consiste em aquecer o produto em altas temperaturas, de até 150 °C, seguido pela retenção por um período muito curto, obtendo-se dessa forma a inativação de microrganismos indesejados e da pectinametilesterase. Em

seguida o suco é rapidamente resfriado até a temperatura ambiente e envasado em ambiente estéril (AWUAH; RAMASWAMY; ECONOMIDES, 2007; CITRUSBR, 2015).

O suco processado desta maneira pode ser comercializado em temperatura ambiente e possui longo prazo de validade, porém possui pouca aceitação no mercado, pois o tratamento térmico severo altera de maneira significativa as características sensoriais do suco (TRIBESS, 2003).

O processo HTST é realizado em temperaturas de (90 a 95) °C de (20 a 90) s, em seguida o suco é resfriado e envasado (CITRUSBR, 2015; DEMIRDÖVEN; BAYSAL, 2016). Uma vez que somente microrganismos vegetativos são destruídos neste processo, o suco pasteurizado deve ser mantido refrigerado em boas condições de higiene, caso em que a vida de prateleira é de aproximadamente 35 dias (CITRUSBR, 2015; GARNACHO et al., 2012). Este processo é amplamente utilizado pela indústria, pois o suco tem maior aceitação no mercado. Porém ainda assim este tratamento térmico convencional causa danos significativos nas características sensoriais e nutricionais do suco de laranja, devido ao sobreaquecimento na superfície de troca térmica (DEMIRDÖVEN; BAYSAL, 2016; VILLAMIEL et al., 1998).

Dentre as perdas nutricionais, destaca-se a vitamina C, parâmetro-chave para avaliar a qualidade do suco de laranja; sua degradação pode levar ao escurecimento não enzimático e conseqüentemente a mudanças no sabor e cor do suco (VILLAMIEL et al., 1998).

2.6.3 Suco de laranja reconstituído

É obtido a partir do suco concentrado, com a adição de água potável em misturas de aromas e essências de laranja, de forma a reduzir o teor de sólidos solúveis de 65° Brix para 11° Brix. A mistura é então pasteurizada, resfriada, embalada e comercializada (CITRUSBR, 2015).

2.7 NOVAS TECNOLOGIAS NO PROCESSAMENTO DO SUCO DE LARANJA

Os processos convencionais de conservação de alimento estão associados à perda da qualidade sensorial e nutricional do alimento (AWUAH; RAMASWAMY;

ECONOMIDES, 2007; IGUAL et al., 2010; POLYDERA; STOFOROS; TAOUKIS, 2003). Com a tendência de hábitos saudáveis e a busca por alimentos minimamente processados, que mantenham as características do produto *in natura*, novos métodos de conservação, classificados como alternativos por não se basearem somente no tratamento térmico convencional, estão sendo investigados para complementar ou mesmo substituir o método tradicional (DEMIRDÖVEN; BAYSAL, 2015, 2016; IGUAL et al., 2010). Dentre eles, destacamos o aquecimento ôhmico e por micro-ondas, como tecnologias alternativas térmicas, e o processamento por alta pressão hidrostática, campo elétrico pulsado e a combinação de alta pressão e CO₂ como tecnologias não térmicas.

Estes métodos alternativos possuem vantagens e desvantagens em comparação ao processo convencional, porém a principal desvantagem, no que se refere à aplicação em escala industrial, está relacionada ao seu alto custo de instalação e operação destas (AGHAJANZADEH; ZIAIIFAR, 2018). Na Tabela 2.7.1 um resumo do mecanismo de ação, vantagens e desafios das tecnologias alternativas no processamento do suco de laranja é apresentado.

A combinação de processos térmicos e não térmicos pode ser utilizada para o processamento de alimentos líquidos e otimizada, buscando diminuir as alterações indesejadas no alimento e aumentar o rendimento do processo (AWUAH; RAMASWAMY; ECONOMIDES, 2007). Para isso, é necessário obter informações sobre os mecanismos de degradação do alimento e a aplicação de conceitos cinéticos.

A tecnologia de micro-ondas tem sido aplicada para pasteurização de alimentos líquidos, pois causa menores mudanças nos atributos de qualidade do suco, além de possuir vantagens definidas sobre o processo convencional, principalmente pelo fato de que os alimentos são aquecidos diretamente e rapidamente sem contato com uma superfície quente, demonstrando que um tratamento rápido, efetivo e econômico é possível (FRATIANNI; CINQUANTA; PANFILI, 2010; IGUAL et al., 2010; TAJCHAKAVIT; RAMASWAMY, 1997b; VILLAMIEL et al., 1998). Além disso, o aquecimento por micro-ondas oferece um rápido *start up* do processo, uma menor perda de calor para o ambiente e um espaço mais compacto de instalação, pois não apresenta a necessidade de uma caldeira (DEMIRDÖVEN; BAYSAL, 2016; HEBBAR; RASTOGI, 2012). Assim, a

tecnologia de micro-ondas demonstra ser uma alternativa para substituir o tratamento térmico convencional do suco de laranja.

Tabela 2.7.1– Mecanismo de inativação, vantagens e desafios das principais tecnologias em alimentos líquidos

Processo	Mecanismo	Vantagens	Desafios
Convencional	Desnaturação térmica.	<ul style="list-style-type: none"> • Menor custo de instalação. 	<ul style="list-style-type: none"> • Sobreaquecimento do alimento. • Incrustação na parede da tubulação.
Micro-ondas	Desnaturação térmica.	<ul style="list-style-type: none"> • Aquecimento rápido e volumétrico. • Possível efeito não térmico. 	<ul style="list-style-type: none"> • Aquecimento não uniforme.
Aquecimento ôhmico	Desnaturação térmica e eletroporação.	<ul style="list-style-type: none"> • Aquecimento rápido e uniforme. • Alta eficiência na transferência de energia. • Design compacto do sistema. 	<ul style="list-style-type: none"> • Incrustação na superfície dos eletrodos.
Campo elétrico pulsado	Eletroporação e mudanças da estrutura conformacional da PME.	<ul style="list-style-type: none"> • Melhor qualidade do produto. • Menor tempo (μs ou ms). 	<ul style="list-style-type: none"> • Emissão de metal do eletrodo no alimento. • Ineficiente na inativação de esporos.
Alta pressão hidrostática	Alteração da estrutura da PME	<ul style="list-style-type: none"> • Baixa temperatura de processo. • Melhor qualidade sensorial e nutricional do produto. 	<ul style="list-style-type: none"> • Patogênicos são resistentes a alta pressão. • Inativação enzimática reversível.
Combinação de alta pressão e CO₂	Interação entre proteína e CO ₂ e a formação do complexo bicarbonato.	<ul style="list-style-type: none"> • Retenção da propriedade do alimento. • Intensificação da inativação em temperaturas acima de 40 °C 	<ul style="list-style-type: none"> • Tempos longos de processo. • Inativação enzimática pode ser reversível.

Fonte: Adaptado de Aghajanzadeh e Ziaifar (2018) e Funcia (2017).

2.8 PROCESSAMENTO TÉRMICO ASSISTIDO POR MICRO-ONDAS

A tecnologia de micro-ondas foi originalmente desenvolvida para equipamentos militares de navegação e comunicação durante a Segunda Guerra Mundial, porém a aplicação desta tecnologia para o processamento de alimentos foi a partir de 1950 com o desenvolvimento dos fornos micro-ondas domésticos (DITCHFIELD; MATSUI, 2016).

As micro-ondas são ondas eletromagnéticas de energia radiante com frequência de 300 MHz a 300 GHz, ou seja, comprimento de ondas variando de 1 mm a 1 m no espaço livre (TEWARI, 2007). No espectro eletromagnético elas se encontram entre as ondas de rádio frequência e infravermelho (Figura 2.8.1), pertencendo assim à radiação não ionizante (SCHUBERT; REGIER, 2005). E como qualquer radiação eletromagnética, ela possui componentes elétrico e magnético que se propagam através do espaço perpendicularmente um ao outro, e podem ser transmitidas, refletidas ou absorvidas pelo material irradiado (SCAMAN et al., 2014; TANG, 2015).

Figura 2.8.1 – Espectro eletromagnético com especificações das frequências e comprimento de onda

Fonte: Adaptado de Schubert e Regler (2005).

Devido às possíveis interferências das frequências de rádio e TV, o uso das micro-ondas para a aplicação em alimentos é estabelecido pela União Internacional de Telecomunicações, que especifica que sejam aplicadas frequências de 915 MHz e 2450 MHz, com exceção da Grã Bretanha, que utiliza uma frequência de 896 MHz (SCHUBERT; REGIER, 2005; TANG, 2015; TEWARI, 2007). Fornos de micro-ondas

domésticos operam, em sua maioria, a 2450 MHz e sistemas industriais utilizam 2450 ou 915 MHz (SALAZAR-GONZÁLEZ et al., 2012).

A geração e a aplicação da energia de micro-ondas são constituídas por um sistema com três partes básicas: *magnetron* (gerador das micro-ondas), guia de ondas e aplicador. O magnetron é um diodo a vácuo composto de uma cavidade ressonante circular (ânodo) geralmente feita de cobre, com número par de aletas direcionadas ao cátodo, imerso em um campo magnético perpendicular, como mostra a Figura 2.8.2 (LOVE, 1995).

Figura 2.8.2– Vista interna dos componentes de um *Magnetron*

Fonte: Adaptado de AP (2012).

O cátodo quando aquecido emite elétrons em direção ao ânodo, os quais são desviados pelo campo magnético, obrigando-os a realizarem uma trajetória circular antes de alcançar o ânodo (Figura 2.8.3) (SCAMAN et al., 2014). Como as aletas estão alternando as cargas elétricas positiva e negativa, o elétron que deixa o cátodo em um campo acelerado (carga positiva) irá acelerar e extrair energia do campo eletromagnético, e, quando entra no campo desacelerado (carga negativa), cede energia ao campo eletromagnético. A trajetória curva permite o agrupamento de elétrons, nuvem de elétrons, o que gera as micro-ondas de alta potência (LOVE, 1995). Essa oscilação, produzida pela alternância entre as cargas das aletas, funciona como circuito ressonante na frequência das micro-ondas desejada (SCAMAN et al., 2014).

Figura 2.8.3 - Nuvem de elétrons raiada.

Fonte: Adaptado de Love (1995).

A energia eletromagnética produzida é captada por uma antena de laço circular em uma das cavidades e conduzida ao material a ser aquecido através da guia de ondas e do aplicador. Os guias de ondas são tubos condutores retangulares ou cilíndricos que guiam as ondas até o aplicador (HEBBAR; RASTOGI, 2012). Este nada mais é que a cavidade em que as micro-ondas são aplicadas no alimento, e podem ser monofocais, em que as micro-ondas atingem o produto diretamente sem refletirem nas paredes da cavidade, ou multifocais, em que a micro-ondas sofrem múltiplas reflexões na parede da cavidade e interagem com o produto (ORSAT; RAGHAVAN; KRISHNASWAMY, 2017).

O aquecimento de alimentos ocorre por dois mecanismos principais, a rotação do dipolo e a condução iônica. Quando um campo elétrico oscilante é aplicado sobre moléculas polares, sendo a água o componente polar principal nos alimentos, estas tendem a se alinhar com o campo (Figura 2.8.4), cuja alternância ocorre milhares de vezes por segundo, o que gera calor por atrito, e quando o campo elétrico é removido as moléculas retornam à sua orientação aleatória (DITCHFIELD; MATSUI, 2016; TEWARI, 2007).

Figura 2.8.4 – Mecanismo de rotação dipolar da molécula de água

Fonte: O autor (2019).

O mecanismo de condução iônica ocorre quando os íons em solução se movem em resposta ao campo elétrico oscilante, ou seja, movem-se em uma direção e depois na direção oposta com a mesma frequência do campo, o que causa a colisão entre íons e outras moléculas e gera calor por fricção (DITCHFIELD; MATSUI, 2016; SALAZAR-GONZÁLEZ et al., 2012).

Como a água e outros componentes estão volumetricamente distribuídos no alimento, o aquecimento por micro-ondas resulta em um aquecimento volumétrico, cuja eficácia é determinada pelas propriedades dielétricas (TEWARI, 2007).

As propriedades dielétricas do alimento são afetadas por vários fatores, como a frequência do campo elétrico, temperatura, umidade e teor de sais. O conhecimento das propriedades dielétricas se torna necessário para um correto entendimento, simulação e aplicação do aquecimento por micro-ondas (SALAZAR-GONZÁLEZ et al., 2012).

O uso da tecnologia de micro-ondas tem várias aplicações no processamento de alimentos; entre os mais comuns estão o cozimento, secagem, branqueamento, esterilização e pasteurização (HEBBAR; RASTOGI, 2012; ORSAT; RAGHAVAN; KRISHNASWAMY, 2017). A esterilização e pasteurização de alimentos líquidos por micro-ondas em fluxo contínuo é uma técnica emergente, que se destaca devido às várias vantagens frente ao método convencional, como o aquecimento rápido, seletivo e uniforme, menores condições de tempo e temperatura na redução da carga microbiana, inativação enzimática e maior retenção das características sensoriais e nutricionais no alimento (DITCHFIELD; MATSUI, 2016).

O processamento contínuo de alimentos líquidos com micro-ondas focalizadas pode ser realizado como no esquema da Figura 2.8.5, em que a cavidade elíptica de focagem mantém o tubo aplicador por onde o alimento escoar, e são adicionados ao guia de onda um acoplamento de sintonia, que permite reduzir a potência refletida de volta ao *magnétron* e o acoplamento de potência que mede a potência refletida e emitida (BOLDOR et al., 2008). Estudos sobre aplicação de processos contínuos têm sido realizados, como o estudo da inativação enzimática do suco de maçã (SIGUEMOTO et al., 2018); o estudo do processamento de suco de tomate (STRATAKOS et al., 2016); avaliação da uniformidade do aquecimento em um sistema de aquecimento tubular contínuo por micro-ondas (RAAHOLT et al., 2016), dentre outros.

Figura 2.8.5 – Esquema do aquecimento contínuo por micro-ondas

Fonte: Adaptado de Boldor et al. (2008)

Para reforçar o conhecimento sobre o aquecimento por micro-ondas, uma variedade de estudos tem sido realizada, principalmente na eficiência da inativação dos indicadores de segurança alimentar, e com as novas demandas do consumidor, na capacidade de reter as propriedades sensoriais e nutricionais do alimento *in natura*. Na sequência são apresentados alguns estudos sobre a aplicação das micro-ondas na pasteurização do suco de laranja.

Villamiel et al. (1998) avaliaram o processo térmico contínuo do suco de laranja por micro-ondas e pelo método convencional através de uma serpentina com auxílio de um forno micro-ondas e um banho de glicerol, no qual as vazões estudadas em ambos os processos foram 98 mL/min e 87,2 mL/min com tempo de residência de 24 s e 27 s e temperatura de saída de 89,7 °C e 96,5 °C, respectivamente. Resultados indicaram que o aquecimento contínuo por micro-ondas pode ser um método efetivo para a inativação da PME, e nenhuma alteração do teor de ácido ascórbico foi observada, tanto para o processo convencional quanto por micro-ondas.

Cinquanta et al. (2010) avaliaram a pasteurização em batelada do suco de laranja por micro-ondas em diferentes condições de tempo-temperatura, utilizando um forno micro-ondas equipado com sistema de controle de temperatura em tempo real. Neste estudo a fração sensível ao calor da PME foi inativada após 1 min a 70 °C. Os valores de D obtidos foram: $D_{60^{\circ}\text{C}} = 23,2$ min, $D_{70^{\circ}\text{C}} = 10,6$ min, $D_{75^{\circ}\text{C}} = 2,9$

min e $D_{85^{\circ}\text{C}} = 1,7$ min, com um valor de z igual a $22,1^{\circ}\text{C}$. Os autores também avaliaram o teor de ácido ascórbico, com alterações após o primeiro minuto de tratamento em todas as temperaturas, variando de 97 % de retenção em 70°C a 96,1 % em 85°C . A retenção da vitamina C diminuiu pelo aumento do tempo de aquecimento de 92 % após 2,5 min a 70°C para 82 % após 5 min a mesma temperatura. Os autores concluíram que a utilização da tecnologia de micro-ondas resultou em alta retenção do ácido ascórbico em comparação com a degradação da vitamina C obtida no suco de laranja aquecido pelo método ôhmico e infravermelho reportados na literatura.

Igual et al. (2010) processaram suco de toranjas (*Citrus paradise* var. *Star Ruby*) em batelada pelo método tradicional e por micro-ondas, além de avaliarem a estabilidade e os parâmetros de qualidade do suco durante o armazenamento a 4°C e -18°C durante 60 dias. A atividade residual da PME nas amostras pasteurizadas pelo tratamento térmico convencional a 80°C por 11 s foi de 12 %, enquanto que a amostra pasteurizada em forno micro-ondas a 900 W por 30 s mostrou atividade residual de 10 %. O teor de ácido ascórbico mostrou boa estabilidade térmica, 96 % de retenção no tratamento convencional e não houve diferença significativa no processamento por micro-ondas. Por fim, o suco pasteurizado por micro-ondas e congelado preservou melhor os fenólicos totais e a capacidade antioxidante, quando comparado com o fresco ou o pasteurizado convencionalmente. Dessa forma, o uso da energia de micro-ondas oferece uma boa alternativa à pasteurização convencional.

Demirdoven e Baysal (2016) adaptaram um forno micro-ondas para processo contínuo do suco de laranja da variedade Navel, otimizando as condições de temperatura moderada com a metodologia da superfície de resposta e compararam com o tratamento térmico convencional em batelada de 95°C por 60 s. Os pontos ótimos encontrados no processamento por micro-ondas foram: vazão de 40 mL/min, com 900 W de potência e tempo de aquecimento de 52 s e temperatura de saída de 83°C , condição na qual se obteve 95 % de inativação da enzima PME. Na vazão de 50 mL/min, a mesma potência, com tempo de aquecimento de 45 s e temperatura de saída de 75°C , obteve-se 93 % de inativação. Já no tratamento térmico convencional a inativação enzimática foi de 86 %. Os respectivos valores de D calculados foram de 39,24 s, 38,76 s e 70 s, assim as condições de processamento por micro-ondas foram inferiores aos do método convencional. Além disso, houve

uma melhor retenção das características nutricionais, indicada pelo teor de ácido ascórbico encontrado no suco processado, em que nas condições citadas, na vazão de 40 mL/min houve 91 % de retenção da vitamina C e 93 % de retenção na vazão de 50 mL/min, enquanto que no tratamento convencional houve 73 % de retenção. Esta variação também pode estar associada ao fato de que o tratamento térmico convencional realizado foi em batelada com volume de 200 mL o qual levou 10 min para atingir a temperatura alvo, tendo, portanto, um maior tempo de exposição ao calor.

Brugos, Gut e Tadini (2018) compararam a cinética de inativação da PME em suco de laranja utilizando aquecimento convencional e por micro-ondas focalizadas levando em conta o histórico de temperatura obtido em tempo real com auxílio de um sensor de fibra ótica. Os autores concluíram que o aquecimento por micro-ondas focalizadas alcançou o mesmo grau de inativação da PME em um período de tempo menor quando comparado ao método convencional. E o processo por micro-ondas foi o único a alcançar 90 % de inativação a 60 °C por pelo menos 10 s de retenção.

De maneira geral, o uso da tecnologia de micro-ondas para a inativação enzimática e a letalidade de microrganismos tem sido vantajoso. Entretanto, em comparação com o tratamento convencional, é necessário um estudo mais preciso e homogêneo do registro do histórico de tempo-temperatura. Por fim, o uso das micro-ondas focalizadas no processamento de alimentos líquidos em fluxo contínuo é novo na indústria de alimentos, o que requer novos estudos para aprimorar esta tecnologia.

2.8.1 Efeitos não térmicos

Além dos efeitos térmicos das micro-ondas, discute-se a presença de efeitos não térmicos ou específicos sobre moléculas ou microrganismos. Este conceito surgiu diante das diferenças experimentais observadas entre os tratamentos térmicos convencionais e por micro-ondas (DATTA; ANANTHESWARAN, 2001; KAPPE; PIEBER; DALLINGER, 2013). Alguns autores afirmam que o efeito adicional na inativação não pode ser atribuído somente ao aquecimento rápido e volumétrico produzidos pelas micro-ondas (TAJCHAKAVIT; RAMASWAMY, 1995, 1997a; MATSUI et al., 2008); outros afirmam que o efeito adicional é resultado de uma comparação inadequada entre os tratamentos térmicos com históricos de tempo-

temperatura sem qualquer semelhança e pela dificuldade de determinar experimentalmente a temperatura exata de reação (DAMM et al., 2012; KAPPE; PIEBER; DALLINGER, 2013; XU et al., 2016).

Diferentes mecanismos são propostos para explicar os possíveis efeitos não térmicos durante o aquecimento por micro-ondas: as estruturas de ligações de hidrogênio em materiais biológicos, por exemplo, poderiam sofrer algum distúrbio pela energia de micro-ondas e alterar sua estrutura conformacional (HEBBAR; RASTOGI, 2012). No entanto, pesquisadores afirmam que os níveis de energia de um fóton das micro-ondas são de ordem de grandeza menor que o necessário para romper ligações químicas e ao movimento Browniano, tornando evidente a improbabilidade de ocorrerem efeitos não térmicos, e que a absorção de energia envolve apenas a dissipação do calor (DATTA; ANANTHESWARAN, 2001; PERREUX; LOUPY, 2002; TANG, 2015).

De forma geral, existem relatos na literatura apoiando ambos os pontos de vista, mas deve-se destacar que uma comparação adequada entre o aquecimento convencional e por micro-ondas deve ocorrer sob condições similares de processamento, ou seja, taxa de aquecimento, temperatura e tempo de retenção similares (BENLLOCH-TINOCO et al., 2014; DAMM et al., 2012; SHAHEEN et al., 2012). Independentemente da natureza do efeito, a aplicação de micro-ondas resulta em vantagens interessantes para uma série de aplicações.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção será apresentada a descrição dos procedimentos para obtenção e caracterização do suco de laranja, e o estudo da cinética de inativação da pectinametilesterase no processamento térmico assistido por micro-ondas.

3.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

Foi adquirido um lote de 20 kg de laranjas da variedade Pera em mercado local da cidade de São Paulo em junho de 2018. As laranjas foram sanitizadas em banho com água clorada (0,2 g/L), selecionadas e pesadas (Figura 3.1.1). O suco de laranja foi obtido em máquina extratora (FMC, *Fresh'N Squeeze*, EUA, 20 laranjas/min), que permite a separação da casca e das partes internas da laranja sem que o óleo essencial da casca seja misturado ao suco, envasado em garrafas PET de 500 mL com tampa e armazenados em plasma freezer a $(-30 \pm 2) ^\circ\text{C}$ (FANEM, 349 FV, Brasil).

Figura 3.1.1 – Etapas do processamento da laranja: (a) sanitização, (b) seleção e (c) extração

Fonte: O autor (2019).

Para a caracterização, o suco foi descongelado sob água corrente, seguido de imersão em banho com água à temperatura ambiente. A caracterização físico-química do suco de laranja foi determinada, em triplicata, conforme os métodos descritos no item 3.3.

3.2 PROCESSAMENTO ASSISTIDO POR MICRO-ONDAS

Para o aquecimento assistido por micro-ondas foi utilizado o reator de síntese química com irradiação por micro-ondas focalizadas (CEM Corporation, *Discover Reflux*, EUA), ilustrado na Figura 3.2.1. Este reator possui *magnetron* de potência máxima de 300 W a frequência de 2450 MHz, sistema de controle de temperatura de (25 a 250) °C, e permite trabalhar com volumes de (5 a 125) mL, sob agitação magnética.

Figura 3.2.1 – Reator de síntese química Discover Reflux (a) e esquema das micro-ondas na cavidade do reator (b)

Fonte: (a) O autor (2019); (b) CEM Corporation (2012)

Guias de ondas conduzem a radiação a uma cavidade cilíndrica através de fendas, que focalizam a radiação em um eixo vertical central, no qual o balão de fundo redondo com a amostra foi inserido (Figura 3.2.2). O histórico de temperatura foi obtido com o termômetro de fibra óptica (*LumaSense Technologies*, Luxtron 812, EUA), e sensor de fibra óptica (*LumaSense*, STF-1M, EUA), que registraram a temperatura da amostra a cada 0,5 s com auxílio do computador.

A programação do reator foi realizada utilizando o software Synergy 1.58 (CEM, EUA) que permite a configuração de potência fixa (*FixedPower*), e temperatura constante (*FixedTemp*) mediante o controle da potência e injeção de ar comprimido. Dessa forma, foi adotado o procedimento em que se iniciou o experimento com a configuração de potência fixa em níveis mais altos, para que o tempo da rampa de aquecimento fosse rápido e uniforme, e quando a temperatura se aproximou da desejada, a configuração de temperatura constante foi adotada (CAVALCANTE, 2017; FUNCIA, 2017). Neste trabalho foi utilizada uma potência nominal fixa de 300 W para a rampa de aquecimento, e nas temperaturas acima de 80 °C, foi utilizada a configuração *FixedPower* com potencia nominal entre (17 e 18) W durante a etapa de manutenção da temperaturas constante.

Figura 3.2.2 – Esquema de uso do reator *Discover Reflux* da CEM Corporation com o balão de fundo redondo com a amostra inserida na cavidade.

Fonte: Adaptado de CEM Corporation (2012).

Amostras de suco de laranja (80 mL) em balão de fundo redondo de vidro tipo Pirex personalizado (6,5 cm de diâmetro e gargalo de 15 cm de altura com 30 mm de diâmetro) foram inseridas no reator, sob agitação com barra magnética de 1,95 cm de comprimento. O sensor de fibra óptica foi inserido no centro do balão com o auxílio de um bastão de vidro (19,5 cm de altura por 6 mm de diâmetro) para centralizar a ponta do sensor na amostra (Figura 3.2.3).

Figura 3.2.3 – Esquema de uso da fibra ótica e do balão de fundo redondo para aquisição do histórico de temperatura

Fonte: O autor (2019).

Demirdöven e Baysal (2015) afirmam que o suco de laranja requer uma pasteurização entre (90 e 95) °C por (60 a 90) s, para atingir a estabilidade. Duvetter et al. (2009) descrevem que em geral a maioria das isoformas da PME é termolábil à

temperatura de 70 °C. Dessa forma, as temperaturas de processo de (70 a 90) °C foram estabelecidas neste trabalho para o estudo da cinética de inativação da PME. A partir de ensaios preliminares foram determinadas as condições experimentais apresentadas na Tabela 3.2.1. O tempo de exposição foi considerado a partir do instante que iniciava a incidência das micro-ondas na cavidade.

Tabela 3.2.1 – Condições de tempo de exposição e temperatura dos ensaios para o estudo da cinética de inativação da PME em suco de laranja.

Temperatura (°C)	Tempo de exposição (s)
70	30, 45, 50, 60, 90, 120, 150, 180
75	55, 60, 75, 90, 120, 150
80	65, 75, 90, 120, 150
85	70, 80, 95, 125, 155
90	75, 85, 100, 130, 160

Fonte: O autor (2019).

Após atingir o tempo de exposição estabelecido, as amostras tratadas foram imediatamente resfriadas em banho de gelo sob agitação manual e então congeladas para posterior caracterização físico-química e determinação da atividade residual da enzima PME, conforme descrito a seguir na seção 3.3.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DO SUCO DE LARANJA

A caracterização físico-química do suco de laranja não processado foi realizada, em triplicata, pelos seguintes métodos:

- pH medido diretamente em pHmetro (TECNAL, Tec-3MP, Brasil) com medição da temperatura;
- Acidez titulável, expressa em ácido cítrico (g ácido cítrico/100 g de suco), por titulação volumétrica em pHStat (Radiometer, PHM290, França) com sistema automático de titulação e agitação magnética (Gehaka, AA-2050, Brasil), conforme descrito no método 942.15 da AOAC (2016);
- Teor de sólidos solúveis expresso em °Brix, medido em refratômetro digital (KRÜSS, DR201-95, Alemanha) e corrigidos em relação à temperatura e à acidez de acordo com Kimball (1999);

- Teor de sólidos totais, conforme descrito no método 920.151 da AOAC (2016) em estufa a vácuo (Marconi, MA030, Brasil) a 70 °C, sob pressão $\leq$ 13,33 kPa;
- Teor de polpa, segundo o método descrito por Kimball (1999) em centrífuga (Tominaga, TD-65, Brasil) a 595 g e tubo graduado de vidro com volume de 50 mL;
- Teor de ácidos orgânicos descrito na seção 3.3.1
- Cor conforme descrito na seção 3.3.3

O suco de laranja processado foi caracterizado, em triplicata, quanto ao pH, acidez, teor de sólidos solúveis, ácidos orgânicos, cor e atividade residual da enzima PME. Também foi determinada a atividade da enzima PME para o suco de laranja não processado, conforme descrito na seção 3.3.2.

3.3.1 Teor de ácidos orgânicos

O teor de ácidos orgânicos foi determinado no Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, no Laboratório de Química, Bioquímica e Biologia Molecular de Alimentos sob a coordenação do Prof. Dr. Eduardo Purgatto, baseado na metodologia descrita por Amorós et al. (2003).

Os ácidos orgânicos (málico, cítrico e ascórbico) foram determinados, em triplicata, pelo sistema HPLC Agilent 1100 equipado com uma coluna SUPELCEL C-610H (30 cm x 7,8 mm) a 15 °C e um detector (DAD) monitorado a 210 nm. Para a fase móvel foi utilizada uma solução aquosa 0,1 mL/100 mL de ácido fosfórico fluindo isocraticamente à uma vazão de 0,4 mL/min. A identificação e quantificação foram realizadas por curvas de calibração utilizando padrões autênticos (MERCK, Alemanha) e os resultados expressos em mg/100 mL de suco.

3.3.2 Análise da atividade da enzima pectinametilesterase (PME)

A análise da atividade enzimática foi conduzida conforme Rouse e Atkins (1955), em triplicata, utilizando o pHStat (Radiometer, PHM290, França) com sistema automático de titulação, junto ao banho de água termostático (LAUDA, Eco

Gold, Alemanha). Solução 0,02 M de NaOH foi usada para a titulação e pectina cítrica com grau de metoxilação entre (55 e 70) % (SIGMA-ALDRICH, P9436-50G, EUA) como substrato.

Este método consiste na medida da quantidade de solução de NaOH gasta para manter o pH em 7,5 a 30 °C por 30 min de uma solução de pectina adicionada de suco de laranja. A diminuição do pH ocorre devido à liberação de grupos carboxila decorrentes da hidrólise de ésteres metílicos da pectina pela enzima PME.

A atividade enzimática (*PMEU*) representa a quantidade de enzima que hidrolisa um miliequivalente de éster por minuto por mL de suco, conforme Eq. (3.3.1):

$$PMEU = \frac{V_s \cdot N}{V_a \cdot 30 \cdot SS} \quad (3.3.1)$$

em que: V_s é o volume de solução de NaOH gasto na titulação, N a normalidade da solução de NaOH, V_a o volume de amostra e SS o teor de sólidos solúveis da amostra (°Brix).

O grau de inativação da enzima foi expresso como a razão da atividade residual após o processamento térmico, pela atividade determinada no suco não processado $PMEU/PMEU_0$.

3.3.3 Análise de cor

A cor do suco de laranja foi determinada a partir das coordenadas da escala CIELab conforme a Figura 3.1.2, em que o parâmetro L^* representa a luminosidade, e os parâmetros a^* e b^* a cromaticidade. Estes parâmetros foram medidos, em triplicata, por espectrofotômetro (HunterLab, ColorQuest XE, EUA) com referência ao iluminante D₆₅ com um ângulo visual de 10° e cubeta de vidro (55 mm x 10 mm x 57 mm), no modo reflectância.

Figura 3.3.1 – Diagrama CIELab indicando os parâmetros de cor L^* , a^* e b^*

Fonte: adaptado de Agudo et al. (2014).

A diferença total de cor (ΔE), o valor de Croma (C), que indica a intensidade da cor, e o ângulo hue (h) foram calculados de acordo com as equações abaixo (LEE; COATES, 2003; ASTM D2244-14, 2014). ΔL^* , Δa^* e Δb^* são as diferenças entre os parâmetros do suco antes e após o tratamento térmico.

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (3.3.2)$$

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (3.3.3)$$

$$h = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (3.3.4)$$

A diferença de croma foi calculada ao realizar a diferença entre o valor de croma obtido para o suco processado e não processado:

$$\Delta C^* = C_p^* - C_{np}^* \quad (3.3.5)$$

em que o subscrito p refere-se ao suco processado, e o subscrito np ao suco não processado.

3.4 TRATAMENTO DOS DADOS

Os dados de pH, acidez, teor de sólidos solúveis e teor de ácidos orgânicos foram submetidos a tratamento estatístico usando o software Statgraphics Centurion XVI v.16.1.15. Análise de variância (ANOVA) foi realizada sobre os resultados a fim de detectar diferenças significativas entre os tratamentos térmicos no intervalo de confiança de 95 %. Também foi realizado ANOVA para atividade enzimática da PME e teor de ácido ascórbico no tempo zero, para verificar se o congelamento das amostras do suco recém extraído alterou significativamente a atividade enzimática da PME e o teor de ácido ascórbico.

Os estudos da cinética de inativação da PME, da cinética de degradação do ácido ascórbico e como o processo térmico influenciou a cor do suco de laranja estão descritas nas seções 3.4.1, 3.4.2 e 3.4.3, respectivamente.

3.4.1 Cinética de inativação da enzima PME

Os modelos cinéticos de duas frações e de Weibull foram testados para descrever a cinética de inativação da PME.

Para cada experimento, do histórico de temperatura $T(t)$ adquirido, os valores de F (Eq. 2.4.5) foram obtidos por integração numérica pelo método dos trapézios. Foi adotado 90 °C como T_{ref} e 11 °C como valor de z (BRUGOS; GUT; TADINI, 2018). A partir disto, o modelo multicomponente foi ajustado conforme Eq. (3.4.1), por regressão não linear utilizando o método Maquart no programa Statgraphics, a fim de gerar bons valores de chute inicial.

$$\frac{PMEU}{PMEU_0} = \alpha \exp(-k_1 F) + (1 - \alpha) \exp(-k_2 F) \quad (3.4.1)$$

Depois, os valores das constantes de velocidade k_1 e k_2 obtidos foram convertidos para D_1 e D_2 , conforme Tajchakavit e Ramaswamy (1997b). Assim, a partir dos valores de $(\alpha, D_1$ e $D_2)$, e dos valores de F para o qual se manteve 90 °C como T_{ref} e 11 °C como valor de z_1 e z_2 , foi realizado o ajuste do modelo cinético com duas frações Eq. (3.4.2).

$$\frac{PMEU}{PMEU_0} = \alpha \log\left(-\frac{F_1}{D_{\text{ref},1}}\right) + (1 - \alpha) \log\left(-\frac{F_2}{D_{\text{ref},2}}\right) \quad (3.4.2)$$

Para o modelo modificado de Gompertz, descrito na Eq. 3.4.3, o ajuste foi realizado a partir do F calculado. A taxa de inativação máxima (k_{max}) e a fase “shoulder” com a temperatura podem ser descritas pelo modelo de Bigelow (Gil et al., 2017).

$$\log\left(\frac{PMEU}{PMEU_0}\right) = \log\left(\frac{PMEU_{\text{res}}}{PMEU_0}\right) \exp\left(-\exp\left(-\frac{k_{\text{max}} \exp(1)}{\log\left(\frac{PMEU_{\text{res}}}{PMEU_0}\right)}(L - F) + 1\right)\right) \quad (3.4.3)$$

Para o modelo de Weibull, foi calculado o D_{wi} pela Eq. (2.4.4), na sequência substituiu-se no cálculo da taxa de inativação instantânea $\dot{s}_i$ (Eq. 3.4.4) a cada temperatura T_i no instante t_i , para cada histórico de temperatura $T(t)$. Assim, a atividade residual a cada instante foi calculada com base na atividade anterior (Eq.

3.4.5) a cada passo no intervalo de tempo (0,5 s), para então obter $\log\left(\frac{PMEU}{PMEU_0}\right)$ ao final do histórico de $T(t)$ (FUNCIA, 2017). O valor de $\log\left(\frac{PMEU}{PMEU_0}\right)_0$ adotado foi 10^{-4} para iniciar as interações, e garantir a estabilidade do cálculo numérico iterativo (SERMENT-MORENO et al., 2014; VAN BOEKEL, 2002).

$$\dot{s}_i = -\frac{\beta}{D_{wi}} \left(-\log\left(\frac{PMEU}{PMEU_0}\right)_{i-1} \right)^{\frac{\beta-1}{\beta}} \quad (3.4.4)$$

$$\log\left(\frac{PMEU}{PMEU_0}\right)_i = \log\left(\frac{PMEU}{PMEU_0}\right)_{i-1} + \dot{s}_i \Delta t \quad (3.4.5)$$

O tempo equivalente de processo F_{ref} foi realizado pela Eq.(3.4.6) e o valor de $\log\left(\frac{PMEU}{PMEU_0}\right)$ foi obtido da Eq.(3.4.4).

$$F_{ref} = -D_{w,ref} \left(\log\left(\frac{PMEU}{PMEU_0}\right) \right)^{\frac{1}{\beta}} \quad (3.4.6)$$

Os parâmetros cinéticos foram ajustados de forma interativa pelo solver GRG não linear (Método do Gradiente Reduzido Generalizado) integrado ao software Excel 2016 (Microsoft, EUA), utilizando a soma dos erros quadráticos (SEQ) como função objetivo.

A qualidade do ajuste dos modelos aos dados experimentais foi avaliada a partir da distribuição dos erros, do coeficiente de determinação (R^2), do valor SEQ e comparação visual dos gráficos de paridade.

3.4.2 Cinética de degradação do ácido ascórbico

Os modelos de primeira ordem, fracional e de Weibull foram testados para descrever a cinética de degradação do ácido ascórbico devido ao tratamento térmico assistido por micro-ondas.

Conforme apresentado, o tempo equivalente de processo (F) pode ser utilizado para descrever o impacto do processo sobre um indicador biológico, assim a Eq. (3.4.7) representa a cinética de primeira ordem. Os valores iniciais para a otimização do ajuste do modelo foram: $T_{ref} = 90 \text{ } ^\circ\text{C}$, $z = 24,4 \text{ } ^\circ\text{C}$ e $D = 774,6 \text{ s}$, obtidos na literatura (VIKRAM; RAMESH; PRAPULLA, 2005).

$$\frac{AA}{AA_0} = a \log\left(-\frac{F}{D}\right) \quad (3.4.7)$$

De forma semelhante, a partir do cálculo de F , foi realizado o ajuste do modelo fracional:

$$\frac{AA}{AA_0} = \frac{AA_\infty}{AA_0} + \left(1 - \frac{AA_\infty}{AA_0}\right) \exp(-kF) \quad (3.4.8)$$

em que $\frac{AA_\infty}{AA_0}$ é a fração residual do ácido ascórbico que permanece no suco após um aquecimento prolongado e k é a taxa constante de degradação do ácido ascórbico.

O modelo de Weibull foi ajustado como descrito na seção anterior, ao substituir $\frac{PMEU}{PMEU_0}$ por $\frac{AA}{AA_0}$.

3.4.3 Efeito do tratamento térmico sobre a cor

A influência de diferentes binômios de tempo e temperatura aplicados no tratamento térmico assistido por micro-ondas do suco de laranja sobre a cor foi verificado. Para isto, os valores de Croma (C^*) e da diferença total de cor (ΔE^*) foram determinados, pois representam a relação entre as coordenadas da cor na escala CIELab.

A partir do cálculo do tempo equivalente de processo (F), conforme anteriormente descrito, diferentes modelos cinéticos foram avaliados para descrever a alteração da cor: modelo de ordem zero (Eq. 3.4.9), primeira ordem (Eq. 3.4.10) e o modelo de conversão fracionária (Eq. 3.4.11):

$$Cr = Cr_0 + kF \quad (3.4.9)$$

$$Cr = \exp(-kF) + Cr_0 \quad (3.4.10)$$

$$Cr = Cr_\infty + (Cr_0 - Cr_\infty) \exp(-kF) \quad (3.4.11)$$

em que Cr_0 e Cr representam o valor do parâmetro de cor, no tempo zero e a qualquer tempo, respectivamente; Cr_∞ o valor do parâmetro de cor estável, o qual não se altera com o tempo de processamento, e k a taxa constante de alteração do parâmetro de cor.

O ajuste dos parâmetros foi realizado conforme descrito na seção 3.4.1, de forma interativa, utilizando solver do Excel e a SEQ como função objetivo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados da caracterização físico-química do suco, da cinética de inativação da enzima PME e do efeito do processamento térmico assistido por micro-ondas sobre os indicadores de qualidade como pH, acidez titulável, sólidos solúveis (SS), perfil de ácidos orgânicos e cor.

4.1 CARACTERÍSTICAS DO SUCO DE LARANJA NÃO PROCESSADO

Foram adquiridos 20 kg de laranjas Pera (jun. 2018) e após a seleção, uma quantidade de 19 kg de laranjas foi submetida à extração resultando em 11 kg de suco, ou seja, um rendimento de 0,59 kg de suco/kg de fruta.

Os resultados das análises físico-químicas do suco de laranja não processado apresentados na Tabela 4.1.1, estão coerentes com os da literatura. Os dados foram comparados com os trabalhos de Brugos (2018) que adquiriu dois lotes de laranja no período de fevereiro 2014 e julho 2014, Badolado (2000) que avaliou diferentes lotes de laranja nos períodos entre junho 1999 e fevereiro 2000, e Ramalho (2005) que adquiriu a laranja em suas diferentes fases de maturação em duas regiões diferentes do estado de São Paulo.

Tabela 4.1.1 - Dados físico-químicas do suco de laranja não processado, comparados com os valores descritos na literatura para a variedade Pera.

	O autor (2019)	BRUGOS (2018)	BRASIL (2018)	RAMALHO (2005)	BADOLATO (2000)
pH	3,77 ± 0,02	3,55 e 3,63	-	3,56 a 3,91	3,44 a 4,4
Acidez titulável¹	0,746 ± 0,004	0,680 e 0,879	-	0,45 a 0,81	0,37 a 0,92
Sólidos solúveis²	8,5 ± 0,1	7,67 e 10,28	> 10,5	9,42 a 11,58	10,11 a 12,65
Sólidos Totais³	9,66 ± 0,33	8,12 e 10,58	-	-	10,21 a 12,86
Teor de polpa³	9,67 ± 0,56	10,2 e 14,5	-	-	13,66 a 19,00
Ácido ascórbico⁴	49,90 ± 1,08	23,8 e 51,4	25	46,31 a 61,71	-
Rendimento⁵	58,7 ± 0,3	52,6 e 51,1	45	-	-
Ratio	11,37 ± 0,13	11,29 e 11,76	> 7	12,59 a 22,12	11,92 a 26,35

¹ expressa como (g de ácido cítrico/100 g de suco).

² expressos como (°Brix).

³ expresso como (g/100 g de suco).

⁴ expresso como (mg de ácido ascórbico/100 mL de suco).

⁵ expresso como (g de suco/100 g de laranja)

Embora os resultados sejam coerentes com os da literatura, o teor de sólidos solúveis encontra-se abaixo do padrão de identidade e qualidade determinado pela legislação brasileira para o suco comercializado (Brasil, 2018). No que se refere ao *ratio*, apesar de atender o mínimo requerido pela legislação brasileira, está abaixo do padrão exigido pela indústria (acima de 12), que requer uma melhor qualidade sensorial (DONADIO, 1999). Uma das possíveis explicações para este resultado seria a aquisição no período de entressafra (junho/2018), no qual as laranjas não atingiram a maturação ideal.

Além dos fatores edafoclimáticos que afetam a composição da laranja, os açúcares totais aumentam com o grau de maturação da fruta (LADANIYA, 2008). Nesta etapa ocorre o desenvolvimento de sabores específicos, bem como a redução da acidez e gradual aumento do *ratio* (KIMBALL, 1999; LADANIYA, 2008). Este comportamento, em que o suco de laranja apresentou composição diferente entre os períodos de colheita, já foi observado por outros autores (BRUGOS, 2018; RAMALHO, 2005).

4.1.1 Atividade enzimática

A atividade da PME obtida do suco de laranja não processado variou entre (4,15 e 5,54) $\times 10^{-4}$ PMEU mL⁻¹ °Brix⁻¹ com uma média geral de 4,75 $\times 10^{-4}$ PMEU mL⁻¹ °Brix⁻¹. Este trabalho adotou a unidade (PMEU mL⁻¹ °Brix⁻¹) para eliminar a variabilidade do índice de maturação da laranja, apesar de que diversos autores apresentam a atividade de PME apenas em função do volume de suco (PMEU mL⁻¹).

A análise de variância realizada do suco não processado (0 s) mostrou que não houve diferença significativa no valor da atividade enzimática ($p > 0,05$), indicando que o congelamento preservou a atividade da PME durante a realização do estudo.

O valor de atividade enzimática obtido possui a mesma ordem de grandeza dos relatados na literatura (Tabela 4.1.2). Variações da atividade enzimática podem estar associadas a vários fatores como: variedade da fruta, estágio de maturação, safra e características físico-químicas, como o teor de polpa (LADANIYA, 2008; SNIR et al., 1996).

Atkins e Rouse (1953, 1954); Rouse e Atkins (1952, 1953), estudaram a cinética de inativação da PME em suco de laranja de diferentes variedades, e relataram que menores atividades enzimáticas foram encontradas em sucos com menor teor de polpa. Nestes estudos o suco de laranja fresco variou de $(1 \text{ a } 4) \times 10^{-2}$ PMEU mL⁻¹ °Brix⁻¹. O suco de laranja é considerado comercialmente estável quando a atividade tem magnitude de 10^{-4} PMEU mL⁻¹ °Brix⁻¹ (EAGERMAN; ROUSE, 1976; SIO et al., 2001).

Tabela 4.1.2 - Atividade enzimática do suco de laranja não processado (PEU₀) da variedade Pera em comparação ao relatado na literatura

Autor	PMEU mL ⁻¹ °Brix ⁻¹	Variedade
TAJCHAKAVIT; RAMASWAMY (1997a)	$(0,04 \text{ a } 0,17) \times 10^{-3}$	Comercial
BADOLATO (2000)	$(0,3 \text{ a } 2,7) \times 10^{-3}$	Pera
TRIBESS (2003)	$(0,20 \text{ a } 0,43) \times 10^{-3}$	*
COLLET et al. (2005)	$0,65 \times 10^{-3}$	Pera
CINQUANTA et al. (2010)	$0,0167 \times 10^{-3}$	Sweet
BRUGOS (2018)	$(0,57 \text{ a } 0,87) \times 10^{-3}$	Pera
O autor (2019)	$(0,42 \text{ a } 0,55) \times 10^{-3}$	Pera

*mistura de suco de laranja das variedades Pera e Lima.

Assim, a atividade enzimática inicial (PMEU₀) obtida é similar à reportada na literatura e acima do considerado estável, sendo necessário tratamento térmico para reduzir a sua atividade e alcançar a estabilidade do suco.

4.2 ESTUDO DA CINÉTICA DE INATIVAÇÃO DA PME

Na Figura 4.2.1 exemplos de perfis de temperaturas registrados durante o aquecimento assistido por micro-ondas são mostrados, em que se observa um aquecimento rápido, linear e constante ($0,9 \text{ °C s}^{-1}$) com coeficientes angulares próximos, o que possibilitou uma boa reprodutibilidade dos testes.

Figura 4.2.1 – Exemplos de históricos de temperatura obtidos no aquecimento assistido por micro-ondas a 70 °C, em reator (CEM, Discover Reflux, EUA) do suco de laranja

Fonte: O autor (2019).

As taxas de resfriamento foram diferentes porque nesta fase a agitação foi manual, não sendo possível obter uma agitação constante. A agitação magnética foi realizada em testes preliminares, e apresentou uma curva de resfriamento muito longa, levando a maiores perdas sensoriais e nutricionais no suco de laranja.

O mesmo comportamento (aquecimento rápido, linear e constante) pode ser observado na Figura 4.2.2, que apresenta o perfil de temperatura para a duplicata de uma condição de tempo-temperatura. Entre a temperatura desejada e a temperatura real obtida não houve desvio superior a 1,5 °C, e o desvio padrão da temperatura real obtida não foi superior a 0,5 °C, o que comprova de fato que a agitação magnética promoveu a estabilidade da temperatura. As mesmas condições foram observadas para os demais ensaios.

Figura 4.2.2 - Históricos de temperatura obtidos durante o aquecimento assistido por micro-ondas de suco de laranja na condição experimental de 75 °C por 150 s de exposição

Fonte: O autor (2019).

A partir dos históricos de tempo temperatura e dos valores da atividade enzimática o ajuste do modelo de primeira ordem com duas frações foi realizado conforme descrito no item 3.4. Os parâmetros cinéticos ajustados podem ser observados na Tabela 4.2.1. Nota-se valor de coeficiente de determinação (R^2) próximo de 1 e soma dos erros quadráticos baixo. Isto indica um bom ajuste do modelo aos dados experimentais.

Tabela 4.2.1 – Parâmetros cinéticos da enzima PME em suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de dois componentes a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2).

α	z_1 (°C)	D_1 (s)	z_2 (°C)	D_2 (s)	SEQ	R^2
0,91	10,6	0,18	11,8	32,8	0,09	0,98

$$A/A_0 = \alpha \log(-t/D_1) + (1 - \alpha) \log(-t/D_2)$$

Os valores da atividade enzimática utilizados no ajuste do modelo cinético de primeira ordem com duas frações são apresentados na Tabela 4.2.2. Os valores de F_1 e F_2 referem-se, respectivamente, ao tempo equivalente das isoformas termolábil e termorresistente a T_{ref} de 90 °C.

A atividade residual da PME após o tratamento térmico assistido por micro-ondas diminuiu com o aumento do tempo de exposição e da temperatura (Tabela 4.2.2), conforme esperado. Nota-se que a partir do tempo de exposição de 50 s a temperatura alvo de 70 °C é possível obter inativação enzimática superior a 50 %; de

acordo com o histórico de $T(t)$ da condição citada, a temperatura mais alta alcançada foi de 66 °C.

Tabela 4.2.2 - Atividade enzimática da PME em função da temperatura, tempo de exposição e do tempo equivalente para isoforma termolábil (F_1) e termorresistente (F_2) a temperatura de referência de 90 °C

T (°C)	t (s)	F_1 (s)	F_2 (s)	$PMEU$ ($\times 10^{-4}$)	$PMEU/PMEU_0$
70	30	0,001 $\pm$ 0,000	0,004 $\pm$ 0,000	4,234 $\pm$ 0,147	0,89 $\pm$ 0,03
	45	0,028 $\pm$ 0,002	0,058 $\pm$ 0,004	3,503 $\pm$ 0,238	0,74 $\pm$ 0,05
	50	0,080 $\pm$ 0,007	0,149 $\pm$ 0,011	1,941 $\pm$ 0,211	0,41 $\pm$ 0,05
	60	0,266 $\pm$ 0,030	0,438 $\pm$ 0,047	0,663 $\pm$ 0,070	0,14 $\pm$ 0,01
	90	0,576 $\pm$ 0,031	0,930 $\pm$ 0,045	0,529 $\pm$ 0,052	0,11 $\pm$ 0,01
	120	0,835 $\pm$ 0,013	1,356 $\pm$ 0,017	0,489 $\pm$ 0,038	0,10 $\pm$ 0,01
	150	1,280 $\pm$ 0,128	2,041 $\pm$ 0,175	0,399 $\pm$ 0,097	0,08 $\pm$ 0,02
	180	1,842 $\pm$ 0,299	2,887 $\pm$ 0,422	0,342 $\pm$ 0,059	0,07 $\pm$ 0,01
75	55	0,172 $\pm$ 0,008	0,291 $\pm$ 0,015	0,823 $\pm$ 0,055	0,17 $\pm$ 0,01
	60	0,437 $\pm$ 0,011	0,680 $\pm$ 0,021	0,417 $\pm$ 0,037	0,09 $\pm$ 0,01
	75	1,011 $\pm$ 0,050	1,480 $\pm$ 0,098	0,301 $\pm$ 0,026	0,06 $\pm$ 0,01
	90	1,830 $\pm$ 0,025	2,595 $\pm$ 0,037	0,280 $\pm$ 0,046	0,06 $\pm$ 0,01
	120	3,179 $\pm$ 0,108	4,440 $\pm$ 0,180	0,250 $\pm$ 0,060	0,05 $\pm$ 0,01
	150	4,084 $\pm$ 0,176	5,734 $\pm$ 0,218	0,274 $\pm$ 0,037	0,05 $\pm$ 0,01
80	65	1,173 $\pm$ 0,024	1,642 $\pm$ 0,027	0,332 $\pm$ 0,016	0,07 $\pm$ 0,01
	75	2,375 $\pm$ 0,092	3,145 $\pm$ 0,116	0,275 $\pm$ 0,015	0,06 $\pm$ 0,00
	90	3,625 $\pm$ 0,010	4,722 $\pm$ 0,019	0,248 $\pm$ 0,009	0,05 $\pm$ 0,00
	120	7,077 $\pm$ 0,150	9,050 $\pm$ 0,179	0,255 $\pm$ 0,019	0,05 $\pm$ 0,00
	150	10,70 $\pm$ 0,782	13,54 $\pm$ 0,895	0,262 $\pm$ 0,013	0,06 $\pm$ 0,00
85	70	2,334 $\pm$ 0,134	3,030 $\pm$ 0,156	0,335 $\pm$ 0,053	0,07 $\pm$ 0,01
	80	6,913 $\pm$ 0,207	8,107 $\pm$ 0,190	0,217 $\pm$ 0,038	0,05 $\pm$ 0,01
	95	11,55 $\pm$ 0,516	13,271 $\pm$ 0,555	0,205 $\pm$ 0,021	0,04 $\pm$ 0,00
	125	21,35 $\pm$ 0,435	24,28 $\pm$ 0,442	0,141 $\pm$ 0,018	0,03 $\pm$ 0,00
	155	31,69 $\pm$ 1,581	35,75 $\pm$ 1,561	0,081 $\pm$ 0,015	0,02 $\pm$ 0,00
90	75	7,264 $\pm$ 0,534	8,356 $\pm$ 0,578	0,148 $\pm$ 0,015	0,03 $\pm$ 0,00
	85	17,48 $\pm$ 0,166	18,56 $\pm$ 0,133	0,059 $\pm$ 0,007	0,01 $\pm$ 0,00
	100	30,25 $\pm$ 1,737	31,51 $\pm$ 1,649	0,026 $\pm$ 0,018	0,01 $\pm$ 0,00
	130	60,06 $\pm$ 5,534	61,09 $\pm$ 4,765	0,027 $\pm$ 0,009	0,01 $\pm$ 0,00
	160	88,94 $\pm$ 4,469	90,45 $\pm$ 4,143	0,024 $\pm$ 0,015	0,00 $\pm$ 0,00

Observa-se que a temperatura de 80 °C não houve aumento do grau de inativação em relação à temperatura de 75 °C, ou seja, após atingir uma atividade residual de 5 % a 75 °C por 120 s de exposição não houve diferença significativa. O grau de inativação foi superior quando foi aplicada a temperatura de 85 °C.

Cinquanta et al. (2010) relatam redução de 60,7 % da atividade da PME em suco de laranja após tratamento assistido por micro-ondas em batelada a 70 °C por 1 min, valor inferior ao encontrado neste trabalho, que obteve 85 % a 70 °C por 60 s de exposição e 90 % na mesma temperatura por 120 s de exposição. Os autores citados obtiveram uma redução da atividade enzimática inicial de $1,4 \times 10^{-4}$ PEU mL⁻¹ para $5,5 \times 10^{-5}$ PEU mL⁻¹ após o tratamento térmico citado, considerado por Kimball (1999) como adequado para atingir a estabilidade do suco.

Villamiel et al. (1998) processaram suco de laranja da variedade Navel por micro-ondas em fluxo contínuo. A inativação da PME de 97,5 % foi atingida nas condições experimentais de vazão a 98 mL min⁻¹ com tempo de residência de 24 s, o qual o suco atingiu a temperatura de 89,7 °C, e grau de inativação de 98,8 % na vazão de 87,2 mL min⁻¹ por 27 s, que alcançou a temperatura de 96,4 °C. De forma semelhante, Demirdöven e Baysal (2016) obtiveram grau de inativação de 95,36 % em fluxo de 40 mL min⁻¹ e 52 s de tempo total de aquecimento, em que o suco alcançou 83 °C, e 93,04 % em fluxo de 50 mL min⁻¹, 45 s e 75 °C.

Dessa forma, o aquecimento por micro-ondas promove uma rápida inativação enzimática que pode ser atribuído ao aquecimento volumétrico e a fração termolábil da PME presente no suco de laranja. Este fenômeno pode ser melhor observado nas Figuras 4.2.3 e 4.2.4.

Na Figura 4.2.3 é mostrado o diagrama de paridade, que confirma o bom ajuste do modelo, porém nota-se um aglomerado dos dados entre (0,0 e 0,2) %, pois a maior parte da enzima presente no suco (cerca de 91) % pertence à fração termolábil que é rapidamente inativada. Assim, têm-se dois fenômenos de inativação ocorrendo em períodos de tempo distintos.

Figura 4.2.3 - Diagramas de paridade com erro de 10 %: atividade residual experimental ($PMEU/PMEU_0 \text{ exp}$) versus a atividade enzimática predita pelo modelo de dois componentes ($PMEU/PMEU_0 \text{ pred}$) (a) e em escala logarítmica (b)

Fonte: O autor (2019).

Ao observar o diagrama de paridade em escala logarítmica (Figura 4.2.3b), nota-se uma melhor dispersão dos dados experimentais, embora alguns pontos não sejam bem representados pelo modelo (90 °C 130 s e 90 °C 160 s), indicando que um grupo de isoformas termorresistente da PME (cerca de 1 %) não é inativada nas condições de tempo/temperatura estudadas.

Este fenômeno pode ser observado na curva do modelo (Figura 4.2.4) considerando a atividade residual em função do tempo equivalente referente à enzima termolábil (F_1). A distribuição da maioria dos pontos (atividade residual experimental) apresenta comportamento próximo à previsão do modelo até cerca de 30 s.

Figura 4.2.4 - Curva de inativação térmica da PME em suco de laranja a temperatura de referência de 90 °C. Atividade residual versus F_1 (a) e logaritmo da atividade residual versus F_1 (b)

Fonte: O autor (2019).

Por isso, outros modelos cinéticos podem ser avaliados, a fim de obter melhor ajuste dos dados de cinética de inativação da PME em suco de laranja durante o aquecimento assistido por micro-ondas.

Neste sentido, como descrito na seção 3.4, também foi realizado o ajuste dos modelos de Gompertz e Weibull para descrever a cinética de inativação da PME em suco de laranja. Os parâmetros cinéticos ajustados para o modelo de Gompertz são apresentados na Tabela 4.2.3 e de Weibull na Tabela 4.2.4.

Tabela 4.2.3 - Parâmetros cinéticos da enzima PME em suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de Gompertz a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadráticos (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2)

$\frac{PMEU_{\text{res}}}{PMEU_0}$	z (°C)	k_{max} (s ⁻¹)	L (s)	SEQ	R^2
0,05	14,1	0,18	0,09	0,15	0,97

$$\log(A/A_0) = \log(A_{\text{res}}/A_0) \exp(-\exp((-k_{\text{max}} \exp(1) / \log(A_{\text{res}}/A_0)) + 1))$$

O valor de z maior, obtido no ajuste do modelo de Gompertz, indica uma maior resistência térmica da enzima PME no suco de laranja, do que a prevista pelo modelo de primeira ordem com duas frações. O valor da fração enzimática residual ($\frac{PMEU_{\text{res}}}{PMEU_0}$) foi próximo ao da fração termorresistente obtido no modelo de primeira ordem com duas frações, porém essa fração enzimática residual diminui com a intensidade do tratamento térmico, o que não é observado no modelo de Gompertz que tende assintoticamente para $\frac{PMEU_{\text{res}}}{PMEU_0}$. Isto explica a tendência linear observada no diagrama de paridade (Figura 4.2.5).

Figura 4.2.5 - Diagramas de paridade com erro de 10 %: atividade residual experimental ($PMEU/PMEU_0 \text{ exp}$) versus a atividade enzimática predita pelo modelo de Gompertz ($PMEU/PMEU_0 \text{ pred}$) (a) e em escala logarítmica (b)

Fonte: O autor (2019).

Este comportamento pode ser melhor observado na Figura 4.2.6. Nota-se que os dados experimentais com atividade abaixo de 5 % não são representados pelo modelo, cuja atividade residual permanece constante em 0,05.

Figura 4.2.6 - Atividade residual da PME em suco de laranja em função do tempo equivalente de processo a 90 °C em comparação da predição do modelo de Gompertz

Fonte: O autor (2019).

A Tabela 4.2.4 apresenta os parâmetros cinéticos ajustados para o modelo de Weibull. Observa-se que o fator β foi menor que um, o que indica a existência de enzimas com resistências diferentes, como esperado. Ao analisar o gráfico de paridade (Figura 4.2.7) nota-se uma tendência e a falta de ajuste com relação à fração termorresistente.

Tabela 4.2.4 - Parâmetros cinéticos da enzima PME em suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de Weibull a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadráticos (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2)

β	D_w (s)	z (°C)	SEQ	R^2
0,285	0,001	4,24	0,39	0,93

$$\log(A/A_0) = -(t/D_w)^\beta$$

Figura 4.2.7 - Diagramas de paridade com erro de 10 %: atividade residual experimental ($PMEU/PMEU_0 \text{ exp}$) versus atividade enzimática predita pelo modelo de Weibull ($PMEU/PMEU_0 \text{ pred}$) (a) e em escala logarítmica (b)

Fonte: O autor (2019).

Ao analisar a curva predita pelo modelo de Weibull com relação aos dados experimentais (Figura 4.2.8) verifica-se a falta de ajuste e o modelo não representa a inativação da enzima PME em suco de laranja nas condições deste estudo.

Figura 4.2.8 - Atividade residual da PME em suco de laranja em função do tempo equivalente de processo a 90 °C em comparação a curva obtida pelo do modelo de Weibull

Fonte: O autor (2019).

Levando em consideração os valores de R^2 , SEQ , e a avaliação visual dos gráficos de paridade, o modelo cinético de primeira ordem com duas frações, de fato é o que melhor representa a cinética de inativação da enzima PME em suco de

laranja. Assim, o comportamento da inativação da PME pelo modelo ajustado foi simulado em diferentes temperaturas de referência apresentado na Figura 4.2.9.

Observa-se que quando a temperatura aumenta maior é o declínio da atividade residual, ou seja, quanto maior a temperatura mais rápida é a inativação enzimática, como esperado. As curvas cinéticas para o modelo nas T_{ref} de 85 °C e 90 °C se sobrepõem até 1 s. Após este tempo, um aumento significativo na cinética de inativação ocorre na temperatura de referência de 90 °C. A partir de 9 s, as curvas do modelo na temperatura de referência de (75 e 80) °C são similares, bem como a curva a 70 °C a partir de 22 s, conforme esperado ao analisar os dados experimentais (Tabela 4.2.2).

Figura 4.2.9 – Simulação da cinética de inativação da PME em suco de laranja pelo modelo com duas frações em diferentes temperaturas de referência

Fonte: O autor (2019).

Os valores dos parâmetros cinéticos para a PME no intervalo de temperatura entre 70 °C e 90 °C frente aos reportados na literatura são apresentados na Tabela 4.2.5. Os trabalhos citados na tabela utilizaram suco de laranja, processaram em batelada e consideraram dois conjuntos de isoformas. Observa-se que o presente estudo está de acordo com os valores reportados para a polpa da laranja Valencia, conforme estudado por Wicker e Temelli (1988). Na temperatura de referência de 70 °C os valores de D_1 são da mesma ordem de grandeza dos citados por Brugos (2018) para o suco de laranja da variedade Pera e Tajchakavit e Ramaswamy (1997a) para suco de laranja comercial. Observa-se também que os valores de D_1 e

D_2 são da ordem de grandeza diferente dos reportados por Lee et al. (2003) para o suco de laranja da variedade Valencia. O valor de z está de acordo com os reportados na literatura.

Tabela 4.2.5 – Parâmetros cinéticos da inativação da PME em suco de laranja em diferentes temperaturas de referência (T_{ref}) frente aos reportados na literatura

Temperaturas de referência (T_{ref}) frente aos reportados na literatura										
	O autor (2019)		Brugos (2018) ^M		Lee et al. (2003) ^C		Tajchakavit; Ramaswamy (1997a) ^C		Wicker; Temelli (1988) ^C	
T_{ref} (°C)	D_1 (s)	D_2 (s)	D_1 (s)	D_2 (s)	D_1 (s)	D_2 (s)	D_1 (s)	D_2 (s)	D_1 (s)	D_2 (s)
70	13,6	1608,1	6,7	1203	-	-	37,2	1200	15,9	>174
75	4,6	607,6	-	-	204,8	14438	-	-	-	-
80	1,6	229,6	1,2	407	70,4	1809	8,4	892,8	1,9	>174
85	0,5	86,7	-	-	22,1	270	6,5	328,9	0,6	173,6
90	0,2	32,8	0,2	131	6,3	33	2,8	109,3	0,2	32,4
z (°C)	10,6	11,8	13,7	20,3	9,9	5,7	17,6	31,1	10,8	6,5

Em que ^M: representa estudos realizados por micro-ondas e ^C: tratamento térmico convencional.

Existem outros trabalhos na literatura que descrevem a cinética de inativação da PME em suco de laranja e até consideram a existência de pelo menos duas frações de isoenzimas (termolábil e termorresistente), porém utilizam o modelo cinético considerando apenas uma isoforma (CINQUANTA et al., 2010; DEMIRDÖVEN; BAYSAL, 2016; TAJCHAKAVIT; RAMASWAMY, 1995).

CINQUANTA et al. (2010) adaptaram forno micro-ondas para o processamento descontínuo do suco de laranja da variedade *Sweet* e reportaram valor de $z = 22,1$ °C e valores de $D = (11; 2,9$ e $1,7)$ min a (70, 75 e 85) °C, respectivamente. Tajchakavit e Ramaswamy (1995) adaptaram forno micro-ondas para o processamento contínuo de suco de laranja e reportaram valores de $D = (36, 9,9; 4,0$ e $3,5)$ s a (70, 80, 85 e 90) °C e valor de $z = 17,5$ °C. Demirdöven e Baysal (2016) após tratamento térmico por micro-ondas em fluxo contínuo do suco de laranja relataram valores de $D = 39,24$ s a 83 °C e $D = 38,76$ s a 75 °C.

Tribess e Tadini (2006) correlacionaram o pH do suco aos parâmetros cinéticos da PME, e relataram valores de $D_1 = 3,38$ s e $D_2 = 2303,0$ s a 85 °C com $\alpha = 0,999$ para o suco com pH de 3,7 e valores de $D_1 = 7,43$ s e $D_2 = 767,67$ s a 85 °C com $\alpha = 0,970$ para o suco com pH de 3,8, faixa de pH obtida neste estudo.

Quanto à fração da isoforma termorresistente, Snir et al. (1996) reportaram que a isoenzima termorresistente foi responsável por até 18,56 % da fração total da enzima PME no suco de laranja de diferentes variedades. Brugos, Gut e Tadini (2018), Cameron, Baker e Grohmann (1998) e Versteeg et al. (1980) relatam ter

obtido cerca de 5 % da enzima PME como sendo termorresistente, enquanto que Tajchakavit e Ramaswamy (1995) relatam 8 %. Neste estudo foi obtida uma fração com 9 %.

Os diferentes valores dos parâmetros cinéticos e graus de inativação reportados na literatura podem ser explicados pelo fato de que a cinética de inativação da PME em suco de laranja está relacionada a vários fatores, como: as múltiplas isoenzimas presentes no suco (AGHAJANZADEH; ZIAIIFAR, 2018), propriedades físico-químicas (AGHAJANZADEH; ZIAIIFAR, 2018; TRIBESS; TADINI, 2006; VAN DEN BROECK et al., 1999), variedade do cultivar (EAGERMAN; ROUSE, 1976; INGALLINERA et al., 2005) e condições de processamento do suco (TAJCHAKAVIT; RAMASWAMY, 1997b).

Além disso, deve-se considerar que o modelo escolhido possui cinco parâmetros e que estes devem ser analisados em conjunto. Dessa forma, foi realizada a simulação do modelo a partir dos dados da Tabela 4.2.5 e dos reportados por Tribess e Tadini (2006) para o suco com pH 3,8 na T_{ref} de 85 °C, conforme apresentado na Figura 4.2.10.

Nota-se que o modelo cinético possui comportamento similar ao de Brugos, Gut e Tadini (2018) para o processamento por micro-ondas, porém este obteve menor fração termorresistente da PME. Observa-se também que o processamento por micro-ondas atinge maior grau de inativação em menor tempo de processo quando comparado ao aquecimento convencional (LEE et al., 2003; TAJCHAKAVIT; RAMASWAMY, 1997a; TRIBESS; TADINI, 2006). Quando simulado na T_{ref} de 90 °C, o modelo simulado com os parâmetros cinéticos obtidos por Lee et al. (2003) atinge o mesmo grau de inativação e permanece com comportamento cinético similar ao obtido neste trabalho após 15 s.

Figura 4.2.10 - Curvas de inativação térmica simuladas com os parâmetros cinéticos reportados na literatura a temperatura de referência de 85 °C

4.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO SUCO DE LARANJA PROCESSADO

O suco de laranja processado foi analisado, em triplicata, sob os aspectos físico-químicos: pH, acidez, teor de sólidos solúveis, teor de ácidos orgânicos e cor para cada binômio de tempo-temperatura. Em cada temperatura foi armazenada uma amostra controle de suco não processado, denominada “tempo zero”. Assim, foi realizada uma análise estatística de variância para verificar a influência do tempo de exposição e da temperatura de aquecimento assistido por micro-ondas sobre as características físico-químicas do suco de laranja processado. Os resultados obtidos serão apresentados nos tópicos a seguir.

4.3.1 pH, acidez e teor de sólidos solúveis

A Tabela 4.3.1 apresenta a média geral dos resultados obtidos de pH, acidez e teor de sólidos solúveis em função da temperatura alvo de processo em

comparação ao suco não processado. A análise de variância mostrou que tanto o pH quanto a acidez e o teor de sólidos solúveis não variaram significativamente ($p>0,05$) com a temperatura desejada de processo e o tempo de exposição.

Tabela 4.3.1 – Valores médios do pH, acidez titulável e teor de sólidos solúveis do suco processado em função da temperatura desejada

T (°C)	pH	Acidez¹	Sólidos Solúveis²
NP	3,77 ± 0,02 ^a	0,746 ± 0,004 ^a	8,5 ± 0,1 ^a
70	3,76 ± 0,01 ^a	0,751 ± 0,005 ^a	8,5 ± 0,1 ^a
75	3,76 ± 0,01 ^a	0,753 ± 0,002 ^a	8,6 ± 0,1 ^a
80	3,75 ± 0,01 ^a	0,751 ± 0,002 ^a	8,5 ± 0,1 ^a
85	3,78 ± 0,01 ^a	0,757 ± 0,002 ^a	8,6 ± 0,1 ^a
90	3,76 ± 0,01 ^a	0,752 ± 0,002 ^a	8,5 ± 0,1 ^a
Média	3,76 ± 0,02 ^a	0,753 ± 0,005 ^a	8,5 ± 0,1 ^a

NP: Suco não processado

¹Acidez titulável expressa em g ácido cítrico/100 g de suco

² Teor de sólidos solúveis expressos em °Brix corrigido pela temperatura e acidez

Como foi utilizado um único lote para estudo da cinética de inativação e os resultados mostram que o aquecimento por micro-ondas não alterou as características físico-químicas do suco, foi o processamento térmico assistido por micro-ondas que de fato alterou o grau de inativação da PME no suco de laranja.

4.3.2 Ácidos orgânicos

Os resultados obtidos para a análise de ácidos orgânicos, teor de ácido ascórbico (AA), ácido cítrico (AC) e ácido málico (AM), são apresentados no Apêndice A. Como esperado, o ácido cítrico é o mais abundante no suco ($7,779 \pm 0,165 \text{ mg mL}^{-1}$), o que justifica apresentar a acidez em g de ácido cítrico por 100 g de suco. O teor de ácido málico foi de $2,634 \pm 0,110 \text{ mg mL}^{-1}$ de suco.

A análise de variância e o teste de Tukey (95 % de confiança) mostraram que não houve diferença significativa durante o processamento térmico para o ácido cítrico e málico. O resultado está em conformidade com o esperado já que não houve diferença significativa no pH e acidez do suco durante o processamento.

Também foi realizada análise de variância e para o suco não processado ao longo do período de estudo, o qual mostrou que não houve diferença significativa entre o teor de ácidos orgânicos do suco não processado ($p>0,05$). Dessa forma o

congelamento das amostras de suco recém extraído preservou o teor de ácidos orgânicos do suco de laranja durante a realização do estudo.

O teor de ácido ascórbico do suco não processado foi de $49,90 \pm 1,077$ mg 100 mL⁻¹ de suco, em conformidade com os relatados por Brugos (2018), Ramalho (2005) e TBCA (2017) para a variedade Pera. A concentração de ácido ascórbico apresentou diferença significativa com a intensidade do processamento térmico, como pode ser observado na Figura 4.3.1. Nota-se que a concentração diminui com o aumento do tempo de exposição às micro-ondas.

Figura 4.3.1 - Concentração do ácido ascórbico (AA) em suco de laranja durante o processamento térmico assistido por micro-ondas focalizadas a diferentes temperaturas em função do tempo de exposição

Fonte: O autor (2019).

O teor de ácido ascórbico diminuiu significativamente após 45 s de exposição. A retenção do AA variou entre 91 % a 60 s (70 °C) e 85 % a 160 s (90 °C). Valores semelhantes ao reportados por Cinquanta et al. (2010), que obtiveram 92 % de retenção após 2,5 min e 82 % após 5 min, ambos a 70 °C.

Villamiel et al. (1998) reportaram que o teor de ácido ascórbico se manteve inalterado durante o processamento contínuo do suco de laranja da variedade Navel a 98 mL min⁻¹ com 24 s de tempo de residência em que o suco atingiu 89,7 °C e a 87,2 mL min⁻¹ com 27 s e 96,4 °C, ambos a 525 W de potência nominal. A taxa de aquecimento foi superior ao reportado neste estudo, em que foram necessários 75 s para atingir a temperatura de 90 °C. O processamento por micro-ondas focalizadas

em fluxo contínuo em escala piloto, cujo taxa de aquecimento é maior, alcança maior grau de retenção do ácido ascórbico.

A partir do histórico de temperatura e dos dados experimentais do teor de AA, foi realizado o ajuste do modelo de primeira ordem, fracional e de Weibull conforme descrito no item 3.4. Os parâmetros cinéticos ajustados podem ser observados nas Tabelas 4.3.2; 4.3.3 e 4.3.4, respectivamente.

Tabela 4.3.2 – Parâmetros cinéticos do teor de ácido ascórbico do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de primeira ordem a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2).

D (min)	z (°C)	SEQ	R^2
43,0	121	0,04	0,68

$\log(AA/AA_0) = -t/D$

Ao observar a Tabela 4.3.2, nota-se valor de z com ordem de grandeza superior ao relatado na literatura (20 a 30) °C. Além disso, o coeficiente de determinação baixo (<0,90) indicando que o modelo de primeira ordem não descreve bem o comportamento cinético apresentado pelos dados experimentais.

Na Figura 4.3.2a, pode ser observado o comportamento do modelo frente aos dados experimentais. A Figura 4.3.2b mostra o diagrama de paridade, nota-se a distribuição dos dados não apresenta tendência, e nenhuma grande dispersão dos dados além da barra de erro considerada (10 %), o que indica bom ajuste do modelo dentro do intervalo de retenção do teor de AA obtido no estudo.

Figura 4.3.2 - Retenção do ácido ascórbico em suco de laranja, acrescido da predição do modelo de primeira ordem (a) e diagrama de paridade (b)

Fonte: O autor (2019)

Os parâmetros ajustados para o modelo fracional de primeira ordem (Tabela 4.3.3) mostram-se mais coerentes com os relatados na literatura. O coeficiente de determinação foi superior ao obtido para o modelo de primeira ordem, e o diagrama de paridade não mostra nenhuma tendência (Figura 4.3.3).

Tabela 4.3.3 - Parâmetros cinéticos do teor de ácido ascórbico do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo fracional de primeira ordem a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2)

$\frac{AA_{\infty}}{AA_0}$	$k \text{ (s}^{-1}\text{)}$	$z \text{ (}^{\circ}\text{C)}$	SEQ	R^2
0,85	0,02	55,4	0,04	0,73

$$AA/AA_0 = AA_{\infty}/AA_0 + (1 - AA_{\infty}/AA_0) \exp(-k t)$$

Figura 4.3.3 - Retenção do ácido ascórbico em suco de laranja em comparação da predição do modelo fracional (a) e diagrama de paridade (b)

Fonte: O autor (2019).

De forma alternativa testou-se o modelo de Weibull para descrever a cinética de degradação do AA. Os parâmetros cinéticos ajustados (Tabela 4.3.4) mostram coeficiente de determinação próximo ao obtido para o modelo fracional. Semelhante ao modelo fracional, o diagrama de paridade (Figura 4.3.4), não mostrou nenhuma tendência e dispersão dos dados está mais próxima da reta de 45 °. Os valores baixo (<0,90) do coeficiente de determinação, pode ser explicado pelo fato da amplitude de variação da retenção do AA estar apenas entre 1 e 0,85.

Tabela 4.3.4 - Parâmetros cinéticos do teor de ácido ascórbico do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de primeira ordem a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2)

β	$D_w \text{ (min)}$	$z \text{ (}^{\circ}\text{C)}$	SEQ	R^2
0,51	345	48,1	0,04	0,71

$$\log(AA/AA_0) = -(t/D_w)^\beta$$

Figura 4.3.4 - Retenção do ácido ascórbico em suco de laranja em comparação da predição do modelo de Weibull (a) e diagrama de paridade (b)

Fonte: O autor (2019).

Os estudos relatados na literatura indicam que a cinética de degradação do ácido ascórbico em suco de laranja segue cinética de primeira ordem (DHUIQUE-MAYER et al., 2007; VAN DEN BROECK et al., 2002; VIKRAM; RAMESH; PRAPULLA, 2005). Porém, os resultados obtidos mostram que outros modelos podem ser utilizados para representar a cinética de degradação do ácido ascórbico.

Os parâmetros cinéticos obtidos após o ajuste dos modelos mostraram que o AA no suco de laranja estudado não é tão sensível quanto esperado. O valor- z para o AA em suco de laranja relatados na literatura varia entre (20 a 30) °C para o aquecimento convencional e eletromagnético (VAN DEN BROECK et al., 2002; VIKRAM; RAMESH; PRAPULLA, 2005). Apesar disso, Dhuique-Mayer et al. (2007) ao estudar a degradação térmica do AA em suco de laranja, obtiveram valor- z de 64 °C no aquecimento convencional utilizando tubo de pyrex (15 mL) e banho termostaticado. E segundo os mesmos autores, o fator que poderiam contribuir para uma grande variação dos parâmetros cinéticos inclui características intrínsecas do produto e principalmente o nível de oxigênio dissolvido, pois a degradação do AA no suco é através de mecanismo oxidativo. Por isso o valor- z foi acima do esperado, uma menor incorporação de oxigênio ao utilizar o tubo pyrex.

De forma geral, a vitamina C é um indicador de qualidade do suco de laranja devido a sua fácil degradação, e pode ser utilizado como um parâmetro de processo (KLIMCZAK et al., 2007). Neste sentido as condições de processamento estudadas

apresentaram retenção do teor do ácido ascórbico não inferior a 85 %, ou seja, um produto final com teor de ácido ascórbico não inferior a 42,4 mg 100 mL⁻¹ de suco.

O teor mínimo de AA exigido para o suco de laranja é de 25 mg 100 mg⁻¹ de suco (Brasil, 2018). A recomendação diária de ingestão de vitamina C, para pessoas acima de 19 anos de idade, é estimada em 90 mg dia⁻¹ para homens e 75 mg dia⁻¹ para mulheres (VANNUCCHI; ROCHA, 2012).

Dessa forma, considerando o suco processado obtido neste estudo, um copo de suco (250 mL) seria mais que o suficiente para suprir a recomendação diária de ingestão de vitamina C, o que indica um produto de boa qualidade nutricional. Além disso, o grau de retenção do AA encontrado foi maior que os reportados (DEMIRDÖVEN; BAYSAL, 2016; VIKRAM; RAMESH; PRAPULLA, 2005) no aquecimento convencional. Assim, as micro-ondas focalizadas apresentam um grande potencial para o processamento do suco de laranja sob o aspecto de retenção de vitamina C.

4.3.3 Cor do suco de laranja

As médias dos parâmetros de cor obtidos durante o processamento do suco de laranja são apresentados na Figura 4.3.5. Quanto maior a temperatura e o tempo de exposição, maior a alteração no parâmetro de cor.

O suco não processado ($t = 0$) apresentou parâmetro b^* positivo, que expressa claramente uma tendência ao amarelo ($34,87 \pm 0,04$), enquanto que o parâmetro a^* foi negativo mostrando uma tendência leve ($-1,83 \pm 0,01$) a cor verde. Já para o parâmetro L^* , que representa a luminosidade, obteve-se valor de ($39,10 \pm 0,02$), para o suco não processado.

Figura 4.3.5 Parâmetros de cor durante o tratamento térmico assistido por micro-ondas focalizadas do suco de laranja: (a) parâmetro L^* , (b) parâmetro a^* , (c), parâmetro b^* .

Fonte: O autor (2019)

Os parâmetros de cor apresentados estão de acordo com os relatados na literatura para o suco de laranja não processado, cujos valores variam de 40,2 a 56,1 para o parâmetro L^* , -1,3 a 11,5 para o parâmetro a^* e 17,6 a 57,7 para o parâmetro b^* (CINQUANTA et al., 2010; CORTÉS; ESTEVE; FRÍGOLA, 2008; DEMIRDÖVEN; BAYSAL, 2016; LEE; COATES, 2003). Variação nos parâmetros de cor está relacionada ao perfil de carotenoides presente no suco. O perfil de carotenoides da laranja depende do genótipo, fatores agronômicos, ambientais e tecnológicos, o qual, conseqüentemente também afeta a cor do suco (BEN ABDELAALI et al., 2018; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2010). Por exemplo, Brasili et al. (2017) observaram perfis de carotenoides diferentes entre o suco de dois cultivares de laranja, o suco da laranja Cara Cara apresentou carotenoides específicos que não foram identificados no suco da laranja Bahia.

Na Figura 4.3.5 se observa a mudança significativa nos parâmetros de cor após 45 s de tratamento térmico assistido por micro-ondas. Ao observar o histórico de tempo temperatura, este foi o tempo de exposição necessário para que a amostra atingisse 60 °C. Cinquanta et al. (2010) também observou que o suco de laranja após o tratamento térmico por micro-ondas a 60 °C por 5 min de retenção, não apresentou diferença significativa no valor de C e ΔE .

O suco de laranja possui um padrão complexo de carotenoides, e como já mencionado pode ser afetado por diferentes fatores. Lee and Coates (2003) identificaram 22 carotenoides no suco de laranja da variedade Valência, e nove destes mostraram mudança significativa após o processamento térmico a 90 °C por 30 s. Com isso, houve uma mudança do perfil dos carotenoides primários (de maior concentração) após o processamento térmico e, por conseguinte uma mudança na cor do suco.

Diversos trabalhos propuseram a correlação dos parâmetros de cor com o teor de carotenoides (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2010; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ; VICARIO; HEREDIA, 2003, 2007), e concluíram que a cor do suco de laranja está relacionada ao perfil de carotenoides, e mesmo que os sucos apresentem perfis diferentes, é possível estimar a atividade de vitamina A no suco de laranja. Também foi observado que melhores resultados para uma correlação entre a cor e o teor de carotenoides presente no suco, são obtidos quando as coordenadas de cor são utilizadas em conjunto ($L^* a^* b^*$) ou ($L^* C^* h$).

Assim, a mudança na cor do suco de laranja após o tratamento térmico está relacionada à redução do teor de carotenoides total e a uma mudança no seu perfil, que pode também ser indicada pela variação no ângulo hue (de 93,00 para 93,71) que mostra uma pequena variação na tonalidade da cor (LEE; COATES, 2003; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2010).

Neste estudo, durante o tratamento térmico os parâmetros L^* e b^* aumentaram com a temperatura e o tempo de exposição, enquanto que o parâmetro a^* diminuiu. Isto indica um suco mais amarelo, menos vermelho com luminosidade e intensidade maiores após o processamento (Figura 4.3.6). Este comportamento também foi observado para o tratamento térmico convencional e HIPEF do suco de laranja (CORTÉS; ESTEVE; FRÍGOLA, 2008; LEE; COATES, 2003).

Figura 4.3.6 - Tonalidade da cor do suco de laranja não processado e processo por micro-ondas focalizadas nos maiores tempo de exposição para cada temperatura alvo de processo

Fonte: Adaptado de Konica Minolta (2015)

Para avaliar a influência do processamento térmico sobre a cor do suco de laranja foi realizado o ajuste de modelos cinéticos utilizando os valores da diferença de Croma (ΔC^*) e da diferença total de cor (ΔE^*), conforme descrito na seção 4.3.

Primeiro testou-se o modelo de ordem zero, a partir do tempo equivalente de processo calculado. Os parâmetros cinéticos ajustados podem ser observados na Tabela 4.3.5. O diagrama de paridade (Figura 4.3.7) não apresenta tendência nítida, porém vários pontos apresentam erros superiores a 10 %.

Tabela 4.3.5 - Parâmetros cinéticos da diferença de Croma do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de ordem zero a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2)

$k \text{ (s}^{-1}\text{)}$	$z \text{ (}^{\circ}\text{C)}$	SEQ	R^2
0,04	59,7	68,0	0,76

$$Cr = Cr_0 + kt$$

Figura 4.3.7 – Diferença de Croma entre o suco de laranja processado e não processado em comparação da predição do modelo de ordem zero (a) e diagrama de paridade (b)

Fonte: O autor (2019).

No modelo de primeira ordem, o valor do coeficiente de determinação (R^2) foi menor que o obtido para o modelo de ordem zero (Tabela 4.3.6), além disso, o diagrama de paridade (Figura 4.3.8) mostra dispersão dos dados afastados da reta de 45° e a maior parte dos dados com erro superior a 10 %. Assim, os modelos de ordem zero e de primeira ordem não apresentaram um bom ajuste com relação aos dados experimentais da diferença de croma.

Tabela 4.3.6 - Parâmetros cinéticos da diferença de Croma do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de primeira ordem a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2)

$k \text{ (s}^{-1}\text{)}$	$z \text{ (}^{\circ}\text{C)}$	SEQ	R^2
0,01	76,5	108	0,63

$$Cr = \exp(-k t) + Cr_0$$

Figura 4.3.8 - Diferença de Croma entre o suco de laranja processado e não processado em comparação da predição do modelo de primeira ordem (a) e diagrama de paridade (b)

Fonte: O autor (2019).

Alternativamente, foi avaliado o modelo fracional de primeira ordem, cujos parâmetros cinéticos ajustados podem ser vistos na Tabela 4.3.7. Nota-se a soma dos erros quadrados (SEQ) menor que dos modelos anteriores, e R^2 próximo de 1, o que indica um bom ajuste do modelo aos dados experimentais. O diagrama de paridade (Figura 4.3.9) apresentou melhor aproximação dos pontos a reta de 45° e poucos pontos com erro superior a 10 %, o que confirma um bom ajuste do modelo.

Tabela 4.3.7 - Parâmetros cinéticos da diferença de Croma do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo fracional a T_{ref} de 90 °C e respectivos valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2)

ΔC_{∞}	$k \text{ (s}^{-1}\text{)}$	$z \text{ (}^{\circ}\text{C)}$	SEQ	R^2
4,27	0,08	20,3	10,0	0,97

$$Cr = Cr_0 + (Cr_0 - Cr_{\infty}) \exp(-k t)$$

Figura 4.3.9 - Diferença de Croma entre o suco de laranja processado e não processado em comparação da predição do modelo fracional (a) e diagrama de paridade (b)

Fonte: O autor (2019).

O valor de z obtido para o modelo fracional está na mesma ordem de grandeza do relatado por Fratianni, Cinquanta e Panfili (2010) para o teor de carotenoides total do suco de laranja (14,2 °C) obtido do ajuste do modelo de primeira ordem após tratamento térmico em forno micro-ondas.

Para a diferença total de cor (ΔE^*), de forma semelhante à diferença no valor de croma, os modelos de ordem zero e de primeira ordem não apresentaram ajuste adequado. Os coeficientes de determinação foram baixos ($<0,80$) e gráficos de paridade apresentaram dispersão dos dados afastados da reta de 45° com maior parte dos pontos com erro superior a 10 %, como pode ser visto nas Tabelas 4.3.8 e 4.3.9, e nas Figuras 4.3.10 e 4.3.11.

Tabela 4.3.8 - Parâmetros cinéticos da diferença total de cor do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de ordem zero a T_{ref} de 90 °C e respectivo valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2)

k (s ⁻¹)	z (°C)	SEQ	R^2
0,05	60,9	85,0	0,77

$Cr = Cr_0 + kt$

Figura 4.3.10 – Diferença total de cor entre o suco de laranja processado e não processado em comparação da predição do modelo de ordem zero (a) e diagrama de paridade (b)

Fonte: O autor (2019).

Tabela 4.3.9 - Parâmetros cinéticos da diferença total de cor do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo de primeira ordem a T_{ref} de 90 °C e respectivo valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2)

k (s ⁻¹)	z (°C)	SEQ	R^2
0,01	87,4	139	0,62

$Cr = \exp(-k t) + Cr_0$

Figura 4.3.11 - Diferença total de cor entre o suco de laranja processado e não processado em comparação da predição do modelo de primeira ordem (a) e diagrama de paridade (b)

Fonte: O autor (2019).

Os parâmetros cinéticos ajustados da diferença total de cor para o modelo fracional podem ser observados na Tabela 4.3.10. Nota-se valor de R^2 próximo de 1 e os valores de k e z próximos dos obtidos para a diferença de croma. Isto pode ser explicado pelo fato do parâmetro L^* apresentar comportamento semelhante ao parâmetro b^* (Figura 4.3.5).

Tabela 4.3.10 - Parâmetros cinéticos da diferença de cor do suco de laranja obtidos do ajuste do modelo fracional a T_{ref} de 90 °C e respectivo valores da soma dos erros quadrados (SEQ) e do coeficiente de determinação (R^2)

ΔE_{∞}	$k \text{ (s}^{-1}\text{)}$	$z \text{ (}^{\circ}\text{C)}$	SEQ	R^2
4,88	0,08	20,9	12,3	0,97

$$Cr = Cr_0 + (Cr_0 - Cr_{\infty}) \exp(-k t)$$

Ao analisar o diagrama de paridade (Figura 4.3.12), nota-se que a dispersão dos dados não apresenta tendência nítida, próximos da reta de 45° e poucos pontos com erro superior a 10 %. Dessa forma, o modelo fracional de primeira ordem pode ser utilizado para avaliar a influência do tratamento térmico assistido por micro-ondas focalizadas sobre a cor do suco de laranja.

Figura 4.3.12 – Diferença total de cor entre o suco de laranja processado e não processado em comparação da predição do modelo fracional (a) e diagrama de paridade (b)

Fonte: O autor (2019).

Ao analisar os dados da diferença total de cor, nota-se que todas as amostras cuja inativação da PME foi superior a 95 %, a ΔE^* foi superior a 3,0. E segundo Francis e Clydesdale¹ (1975, apud CORTÉS; ESTEVE; FRÍGOLA, 2008) tem sido considerado que um ΔE^* de 2 é uma diferença visível notável para um número de situações. Assim, o suco processado apresentou grande diferença de cor em relação ao suco não processado.

A cor é um importante atributo de qualidade, e as coordenadas de cor na escala CIELab estão associadas ao perfil de carotenoides presente no suco de laranja. Por isso, quanto maior a diferença de cor maior foi o efeito do tratamento sobre o perfil de carotenoides presente no suco.

4.4 CONDIÇÕES DE PROCESSAMENTO DO SUCO DE LARANJA

De acordo com Kimball (1999), a estabilidade do suco de laranja é alcançada quando a atividade enzimática for de 10^{-4} PMEU mL⁻¹, o que para este trabalho significa obter 98 % de inativação. Foi estabelecido como ideal uma retenção de ácido ascórbico de no mínimo 90 %. Assim, a partir dos parâmetros cinéticos ajustados do modelo de primeira ordem com duas frações (Tabela 4.2.5) para a enzima PME e dos parâmetros cinéticos ajustados do modelo fracional (Tabela 4.3.3) para o teor de AA, foi simulado o tempo equivalente necessário para atingir as condições citadas no intervalo de (70 a 90) °C, observado na Figura 4.4.1.

¹FRANCIS, F.J.; CLYDESDALE, F. M. **Food colorimetry: Theory and applications**: Westport: AVI Publishing Company, 1975.

Figura 4.4.1 - Condições de tempo e temperatura para inativação térmica da PME e degradação do AA no suco de laranja

Fonte: O autor (2019).

Nota-se que quanto maior a temperatura menor deve ser o tempo de processo térmico, como esperado. Na região acima da reta da PME a inativação é maior que 10^{-4} PMEU mL^{-1} , enquanto que, na região abaixo, a inativação irá ser menor e, portanto deve ser evitada. Analogamente, na região acima da reta do AA, a degradação da vitamina é maior. Dessa maneira, a temperatura mínima que pode ser empregada para obter as condições citada foi de $82,5^{\circ}\text{C}$. Isto ocorre, pois é necessário inativar parte das isoenzimas termorresistentes para atingir o grau de inativação adequado. E como visto na seção 4.1, a fração termorresistente, nas condições estudadas, começa a ser inativada em temperaturas acima de 80°C .

As condições de processo adequadas à obtenção do suco de laranja estável com máxima retenção nutricional, representada pelo teor de AA, são indicadas pela zona sombreada (Figura 4.4.1). A diferença total de cor na maior parte das condições ideais de processamento atingiu o valor máximo constante (ΔE_{∞}) após um período longo de processo, e por isso não foi representado. Na região sombreada foi possível obter condições de processo isotérmico mais brandas ($82,5$ a 90°C por 78 a 18 s) que as normalmente empregadas (90 a 95°C por 60 a 90 s) no processamento térmico do suco de laranja (DEMIRDÖVEN; BAYSAL, 2015; EAGERMAN; ROUSE, 1976).

5. CONCLUSÕES

A caracterização do suco de laranja não processado apresentou propriedades em conformidade com as descritas na literatura, porém com teor de sólidos solúveis abaixo do requerido pela legislação.

No estudo da atividade residual da PME pode-se observar uma maior inativação da enzima com o aumento da temperatura e do tempo de exposição.

O modelo de primeira ordem com duas frações, termolábil e termorresistente, apresentou melhor ajuste aos dados experimentais para todas as temperaturas e tempos de exposição considerados neste estudo.

Os parâmetros ajustados para a cinética de inativação da PME no processo assistido por micro-ondas focalizadas foram de: $z_1 = 10,3$ °C, $z_2 = 11,8$ °C, com $D_1 = (0,2; 0,5; 1,6; 4,6; 13,6)$ s e $D_2 = (32,8; 86,7; 229,6; 607,6; 1608,1)$ s para as temperaturas de (90, 85, 80, 75, 70) °C, respectivamente, com α de 0,91 indicando 9 % da isoforma termorresistente.

No estudo da caracterização do suco processado, diferentes condições de processo não influenciaram significativamente os parâmetros físico-químicos pH, acidez e teor de sólidos solúveis.

O teor de ácido ascórbico diminui com o tempo de processamento. Nas condições de estudo não houve perda superior a 15 % no teor de AA, o que indicou um produto de boa qualidade. Os valores de z obtidos após o ajuste dos modelos mostraram uma alta resistência térmica do AA presente no suco de laranja. O modelo fracional apresentou o melhor ajuste, e o modelo de Weibull mostrou potencial para representar a cinética de degradação do AA em suco de laranja.

Os parâmetros de cor indicaram um suco mais amarelo e com luminosidade maior após o tratamento térmico. A diferença total de cor acima de três unidades sugere mudança no perfil de carotenoides presente no suco. Dos modelos testados para avaliar a influência do processo sobre a cor do suco, o fracional foi o que apresentou o melhor ajuste.

A faixa indicada para o processamento térmico assistido por micro-ondas do suco de laranja variou de 82,5 a 90 °C por 78 a 18 s.

REFERÊNCIAS

- AGHAJANZADEH, S. et al. Thermal inactivation kinetic of pectin methylesterase and cloud stability in sour orange juice. **Journal of Food Engineering**, v. 185, p. 72–77, 2016.
- AGHAJANZADEH, S.; ZIAIIFAR, A. M. A review of pectin methylesterase inactivation in citrus juice during pasteurization. **Trends in Food Science and Technology**, v. 71, n. October 2017, p. 1–12, 2018.
- AGUDO, J. et al. A Low-Cost Real Color Picker Based on Arduino. **Sensors**, v. 14, n. 7, p. 11943–11956, 7 jul. 2014.
- AMORÓS, A. et al. Physico-chemical and physiological changes during fruit development and ripening of five loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars. **Food Science and Technology International**, v. 9, n. 1, p. 43–51, fev. 2003.
- ANANTHESWARAN, R. C.; RAMASWAMY, H. S. Bacterial Destruction and Enzyme Inactivation During Microwave Heating. In: DATTA, A. K.; ANANTHESWARAN, R. C. (Eds.). . **Handbook of Microwave Technology for Food Application**. 1. ed ed. New York: Marcel Dekker, 2001. p. 191–210.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 20th ed. Washinton DC, 2016.
- AP. **Cavity Magnetron**. Disponível em: <<http://www.assignmentpoint.com/science/physics/cavity-magnetron.html>>. Acesso em: 21 set. 2018.
- American Society for Testing and Meterials - ASTM. **ASTM D2244-14 - Standart Practice for Calculation of Color Tolerance and Color Differences from Instrumentally Mesured Color Coordinates**. West Conshohocken, PA, ASTM International, 2014.
- ATKINS, C. D.; ROUSE, A. H. Time-Temperature relationships for heat inactivation of pectinesterase in citrus juices. **Food Technology**, v. 7, n. 12, p. 489–491, 1953.
- ATKINS, C. D.; ROUSE, A. H. Time-Temperature-Concentration Relationships for heat inactivation of pectinesterase in citrus juices. **Food Technology**, v. 8, p. 498–500, 1954.
- AWUAH, G. B.; RAMASWAMY, H. S.; ECONOMIDES, A. Thermal processing and

quality: Principles and overview. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 46, n. 6, p. 584–602, 2007.

BADOLATO, G. G. **Tratamento térmico mínimo do suco de laranja natural: e cinética da inativação da pectinesterase**. 2000. 157 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química, Universidade de São Paulo, 2000.

BEN ABDELAALI, S. et al. Carotenoids and colour diversity of traditional and emerging Tunisian orange cultivars (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). **Scientia Horticulturae**, v. 227, p. 296–304, 2018.

BENEN, J. A. E. .; VAN ALEBEEK, G.-J. W. M. .; VORAGEN, A. G. J. Pectic Esterases. In: **Handbook of food enzymology**. 1.ed ed. New York: Marcel Dekker, 2003. p. 849–853.

BENLLOCH-TINOCO, M. et al. *Listeria monocytogenes* inactivation kinetics under microwave and conventional thermal processing in a kiwifruit puree. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 22, p. 131–136, 2014.

BOLDOR, D. et al. Design and implementation of a continuous microwave heating system for ballast water treatment. **Environ Sci Technol**, v. 42, n. 11, p. 4121–4127, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 37. de 1 de outubro de 2018. Aprova o regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para suco de fruta e polpa de fruta. **Diário oficial da União**, Brasília, DF, 01 out. 2018. Seção 1, p. 23.

BRASIL, E. et al. Effect of Pasteurization on Flavonoids and Carotenoids in *Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. Cara Cara' and Bahia' Juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 7, p. 1371–1377, 2017.

BRUGOS, A. F. DE O. **Inativação da pectinametilesterase na pasteurização assistida por micro-ondas de suco de laranja para *Citrus sinensis* L. Osbeck**. 2018. 139 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Departamento de Engenharia Química, Universidade de São Paulo, São paulo, 2018.

BRUGOS, A. F. O.; GUT, J. A. W.; TADINI, C. C. Inactivation kinetics of pectin methyl esterase in the microwave-assisted pasteurization of orange juice. **LWT -**

Food Science and Technology, v. 97, n. July, p. 603–609, nov. 2018.

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. 253–256, 1998.

CAVALCANTE, T. A. B. B. **Investigação de efeitos térmicos e não térmicos de micro-ondas focalizadas sobre a atividade de enzimas de interesse no processamento de produtos à base de frutas**. 2017. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Departamento de Engenharia Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

CEM CORPORATION. DISCOVER SP: Microwave Synthesis Technology. Material promocional de divulgação. Matthews: CEM Corporation, 2012. 8 p. Disponível em: <<http://www.cem.com/discover-sp-resource-library.html>>. Acesso em: 2 de junho de 2018.

CHANDRASEKARAN, S.; RAMANATHAN, S.; BASAK, T. Microwave food processing-A review. **Food Research International**, v. 52, n. 1, p. 243–261, 2013.

CHEN, C. S.; WU, M. C. CRITICAL REVIEW: Kinetic Models for Thermal Inactivation of Multiple Pectinesterases in Citrus Juices. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 5, p. 1–4, 1998.

CHEN, G.; CAMPANELLA, O. H.; CORVALAN, C. M. A numerical algorithm for calculating microbial survival curves during thermal processing. **Food Research International**, v. 40, n. 1, p. 203–208, 2007.

CINQUANTA, L. et al. Effect on orange juice of batch pasteurization in an improved pilot-scale microwave oven. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 1, p. 46–50, 2010.

CITRUSBR. Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Citrícos. A Indústria Brasileira de suco de laranjaRevista CitrusBR. **Revista CitrusBR**, 2015.

COLLET, L. S. F. C. A. et al. A kinetic study on pectinesterase inactivation during continuous pasteurization of orange juice. **Journal of Food Engineering**, v. 69, n. 1, p. 125–129, 2005.

CORRÊA NETO, R. DA S.; FARIA, J. DE A. F. Fatores que influem na qualidade do suco de laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 1, p. 153–161, jan.

1999.

CORTÉS, C.; ESTEVE, M. J.; FRÍGOLA, A. Color of orange juice treated by High Intensity Pulsed Electric Fields during refrigerated storage and comparison with pasteurized juice. **Food Control**, v. 19, p. 151–158, 2008.

DAMM, M. et al. Can electromagnetic fields influence the structure and enzymatic digest of proteins? A critical evaluation of microwave-assisted proteomics protocols. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 18, p. 5533–5543, 2012.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed ed. Porto Alegre: Armad, 2010.

DATTA, A. K.; ANANTHESWARAN, R. C. **Handbook of microwave technology for food applications**. 1. ed ed. New York: Marcel Dekker, 2001.

DEMIRDÖVEN, A.; BAYSAL, T. Effects of electrical pre-treatment and alternative heat treatment applications on orange juice production and storage. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, n. June, p. 443–452, 2015.

DEMIRDÖVEN, A.; BAYSAL, T. Inactivation effect of microwave heating on pectin methylesterase in orange juice. **Ukrainian Food Journal**, v. 5, n. 2, p. 248–261, jun. 2016.

DHUIQUE-MAYER, C. et al. Thermal degradation of antioxidant micronutrients in Citrus juice: Kinetics and newly formed compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 10, p. 4209–4216, 2007.

DITCHFIELD, C.; MATSUI, K. N. Transferência de calor por radiação. In: TADINI, C. C. et al. (Eds.). **Operações Unitária na Indústria de Alimentos**. 1. ed ed. Rio de Janeiro: LTC, 2016. p. 407–437.

DONADIO, L. C. Laranja: Doce e amargo. **Revista pesquisa FAPESP**, n. 45, p. 2, 1999.

DONADIO, L. C. et al. Novas Variedades E Clones De. **Boletim Citrícola - UNESP/FUNEP/EECB**, n. 8, p. 42, 1999.

DUVETTER, T. et al. Pectins in Processed Fruit and Vegetables: Part I-Stability and Catalytic Activity of Pectinases. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 8, n. 2, p. 75–85, 2009.

EAGERMAN, B. A.; ROUSE, A. H. Heat Inactivation Temperature-Time Relationships for Pectinesterase Inactivation in Citrus Juices. **Journal of Food Science**, v. 41, n. 6, p. 1396–1397, 1976.

ESPERANÇA, C. DE F. **Citricultura**. Disponível em: <<https://www.slideshare.net/carolesperanca/citrus-de-mesa>>. Acesso em: 20 set. 2018.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Prática**. 2. ed ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2006.

FRATIANNI, A.; CINQUANTA, L.; PANFILI, G. Degradation of carotenoids in orange juice during microwave heating. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 6, p. 867–871, 2010.

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.

FUNCIA, E. S. **Estudo e modelagem da inativação enzimática no processamento de água de coco verde e suco de laranja por aquecimento ôhmico e dielétrico**. 2017. 93 f. Exame de Qualificação (Doutorado em Ciências) - Departamento de Engenharia Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

FUNDECITRUS. **Reestimativa da safra de laranja 2018/19 do cinturão citrícola de são paulo e triângulo/sudoeste mineiro – cenário em setembro/2018**. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/>>. Acesso em: 21 set. 2018.

GARNACHO, G. et al. Comparative Study of Heat-Treated Orange Juice. **Journal of Microbiology Biotechnology**, v. 2, n. 2, p. 446–457, 2012.

GIL, M. M. et al. On the Use of the Gompertz Model to Predict Microbial Thermal Inactivation Under Isothermal and Non-Isothermal Conditions. **Food Engineering Reviews**, v. 3, n. 1, p. 17–25, 2011.

GIL, M. M. et al. Mathematical Models for Prediction of Temperature Effects on Kinetic Parameters of Microorganisms' Inactivation: Tools for Model Comparison and Adequacy in Data Fitting. **Food and Bioprocess Technology**, v. 10, n. 12, p. 2208–2225, 2017.

GONZALEZ, S. L.; ROSSO, N. D. Determination of pectin methylesterase activity in

commercial pectinases and study of the inactivation kinetics through two potentiometric procedures. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 412–417, 2011.

GUT, J. A. W.; TADINI, C. C. Processamento Térmico de Alimentos. In: TADINI, C. C. et al. (Eds.). . **Operações Unitaria na Industria de Alimentos**. 1. ed ed. Rio de Janeiro: LTC, 2016. p. 443–448.

HAN, Y.; NIELSEN, S. S.; NELSON, P. E. Thermostable and theriviolabile isoforms in commercial orange peel pectinesterase. **Journal of Food Biochemistry**, v. 24, n. 1, p. 41–54, 2000.

HEBBAR, H. U.; RASTOGI, N. K. Microwave Heating of Fluids Food. In: CULLEN, P. J. .; TIWARI, B. K. .; VALDRAMIDIS, V. P. . (Eds.). . **Novel Thermal and Non-thermal Technologies for fluid foods**. 1. ed ed. London: Elsevier, 2012. p. 369–404.

HOU, W. N. et al. ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF PECTINESTERASE FROM VALENCIA ORANGE. **Journal of Food Biochemistry**, v. 21, n. 3, p. 309–333, ago. 1997.

IGUAL, M. et al. Effect of thermal treatment and storage on the stability of organic acids and the functional value of grapefruit juice. **Food Chemistry**, v. 118, n. 2, p. 291–299, 2010.

INGALLINERA, B. et al. Effects of thermal treatments on pectinesterase activity determined in blood oranges juices. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 36, n. 2–3, p. 258–263, 2005.

KAPPE, C. O.; PIEBER, B.; DALLINGER, D. Microwave effects in organic synthesis: Myth or reality? **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 52, n. 4, p. 1088–1094, 2013.

KIMBALL, D. A. **Citrus Processing: A complete guide**. 2.ed ed. Gaithersburg, Maryland: An Aspen Publication, 1999.

KLIMCZAK, I. et al. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 3–4, p. 313–322, 2007.

KONICA MINOLTA. Comunicação precisa da cor. Folheto de comunicação. Konica

minolta sensing americas, 2015 66 p. Disponível em:< <http://sensing.konicaminolta.com.br/learning-center/color-measurement/>>. Acesso em: 15 set. de 2019.

LADANIYA, M. S. **Citrus Fruit: biology, technology and evaluation**. 1. ed. Londres: Elsevier, 2008.

LDC. **Visão geral**. Disponível em: <<http://www ldc.com/br/pr/nossos-negocios/nossas-plataformas/sucos/visao-geral/>>. Acesso em: 21 set. 2018.

LEE, H. S.; COATES, G. A. Effect of thermal pasteurization on Valencia orange juice color and pigments. **LWT - Food Science and Technology**, v. 36, p. 153–156, 2003.

LEE, J. Y. et al. Temperature-time relationships for thermal inactivation of pectinesterases in orange juice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 7, p. 681–684, 2003.

LEWIS, M. J.; HEPPELL, N. J. Kinetics for Microorganism Death and Changes in Biochemical Components. In: **Continuous Thermal Processing of Foods: Pasteurization and Uht Sterilization**. Gaithersburg, Md: Aspen Publishers, 2000. p. 33–54.

LOVE, W. Magnetrons. In: KORYU ISHII, T. (Ed.). **Handbook of Microwave Technology**. 1. ed ed. Boston: Academic Press, 1995. p. 33–54.

MAFART, P. et al. On calculating sterility in thermal preservation methods: Application of the Weibull frequency distribution model. **Acta Horticulturae**, v. 566, p. 107–114, 2001.

MANJATE, D. A.; NESSER, A. L. M.; CÉSAR, T. B. Influência da ingestão do suco de laranja sobre o estado nutricional e dietético em pacientes com hepatite c crônica. **Alimentos e Nutrição - Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v. 24, n. 1, p. 15–19, 2013.

MANMOHIT KALIA, P. K. Pectin Methylesterases: A Review. **Journal of Bioprocessing & Biotechniques**, v. 05, n. 05, 2015.

MATSUI, K. N. et al. Inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in green coconut water by microwave processing. **Journal of Food Engineering**, v. 88,

n. 2, p. 169–176, set. 2008.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J. et al. Study of the influence of carotenoid structure and individual carotenoids in the qualitative and quantitative attributes of orange juice colour. **Food Research International**, v. 43, n. 5, p. 1289–1296, 2010.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Application of Tristimulus Colorimetry to Estimate the Carotenoids Content in Ultrafrozen Orange Juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 25, p. 7266–7270, 2003.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Rapid assessment of vitamin A activity through objective color measurements for the quality control of orange juices with diverse carotenoid profiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 8, p. 2808–2815, 2007.

MUNHOZ, J. R.; MORABITO, R. Otimização no planejamento agregado de produção em indústrias de processamento de suco concentrado congelado de laranja. **Gestão & Produção**, v. 17, n. 3, p. 465–481, 2010.

NEVES, M. F. et al. **O retrato da citricultura brasileira**. Centro de Pesquisa e Progetos em Marketing e Estratégia, Riberão Preto-SP: 2010. Disponível em: <http://www.citrusbr.com.br/download/Retrato_Citricultura_Brasileira_Marcos_Fava.pdf>. Acesso em: 21 set. 2018.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G. Análise de uma Década na Cadeia da Laranja. **MARKESTRAT**, Riberão Preto-SP: 2010. Disponível em: <http://www.citrusbr.com/download/00322_Análise_de_uma_década_na_cadeia_da_laranja_MF.pdf>. Acesso em: 21 set. 2018.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G. Série Consumo de suco de laranja. **Revista CitrusBR**, p. 60, nov. 2016.

NIKDEL, S. et al. Pasteurization of Citrus Juice with Microwave Energy in a Continuous-Flow Unit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, n. 11, p. 2116–2119, 1993.

ORSAT, V.; RAGHAVAN, G. S. V.; KRISHNASWAMY, K. Microwave technology for food processing. In: **The Microwave Processing of Foods**. Second Edi ed. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 100–116.

PERREUX, L.; LOUPY, A. Nonthermal Effects of Microwaves in Organic Synthesis. In: LOUPY, A. (Ed.). . **Microwaves in Organic Synthesis**. Weinheim, FRG: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2002. p. 61–110.

POLYDERA, A. C.; STOFOROS, N. G.; TAOUKIS, P. S. Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurised and high pressure processed reconstituted orange juice. **Journal of Food Engineering**, v. 60, n. 1, p. 21–29, 2003.

RAAHOLT, B. W. et al. Continuous tubular microwave heating of homogeneous foods: evaluation of heating uniformity. **Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy**, v. 50, n. 1, p. 43–65, 2016.

RAMALHO, A. S. T. M. **sistema funcional de controle de qualidade a ser utilizado como padrão na cadeia de comercialização de laranja Pêra *Citrus sinensis* I. Osbeck**. 2005. 91 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

RODRIGO, D.; VAN LOEY, A.; HENDRICKX, M. Combined thermal and high pressure colour degradation of tomato puree and strawberry juice. **Journal of Food Engineering**, v. 79, n. 2, p. 553–560, 2007.

ROSA, L. C. et al. Barreiras dos Estados Unidos as exportações do suco de laranja brasileiro. **Revista Estudos do CEPE**, n. 37, p. 27–57, jun. 2013.

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.

ROUSE, A. H.; ATKINS, C. D. Heat Inactivation of Pectinesterase in citrus juices. **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. 7, n. 6, p. 221–223, 1953.

ROUSE, A. H.; ATKINS, C. D. Pectinesterase and Pectin in Commercial Citrus Juice as Determined by Methods Used at the Citrus Experiment Station. **Technical Bulletin University of Florida**, v. 1, n. 390, p. 19, 1955.

SALAZAR-GONZÁLEZ, C. et al. Recent Studies Related to Microwave Processing of Fluid Foods. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 1, p. 31–46, 2012.

SCAMAN, C. H. et al. Combined Microwave Vacuum Drying. **Emerging Technologies for Food Processing**, p. 427–445, 2014.

SCHUBERT, H.; REGIER, M. **The Microwave Processing of Foods**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2005.

SECEX, P. **Exportações totais de suco de laranja em toneladas de FCOJ**. Disponível em: <http://www.citrusbr.com/download/Relatorio_MAIO-2018_ano-civil.pdf>. Acesso em: 21 set. 2018.

SERMENT-MORENO, V. et al. High-pressure Processing: Kinetic Models for Microbial and Enzyme Inactivation. **Food Engineering Reviews**, v. 6, n. 3, p. 56–88, 2014.

SHAHEEN, M. S. et al. Microwave Applications in Thermal Food Processing. In: CAO, W. (Ed.). **The Development and Application of Microwave Heating**. [s.l.] InTech Open Access Publisher, 2012. p. 3–16.

SIGUEMOTO, É. S. et al. Modeling of time-temperature history and enzymatic inactivation of cloudy apple juice in continuous flow microwave assisted pasteurization. **Food and Bioproducts Processing**, v. 111, p. 45–53, 2018.

SILVA, T. G. Manipulação, Higienização E Sanitização Doméstica De Frutas E Hortaliças Visando O Aumento De Vida Útil. **Boletim Técnico IFTM**, v. 0, n. 2, p. 10–13, 2016.

SILVATEAM. **¿Qué es la pectina?** Disponível em: <<https://www.silvateam.com/es/productos-y-servicios/aditivos-alimentarios/pectina/qu-es-la-pectina.html>>. Acesso em: 21 set. 2018.

SILVEIRA, M. L. R.; BERTAGNOLLI, S. M. M. Avaliação microbiológica e das condições higiênico-sanitárias de comercialização de sucos de laranja in natura. **Alim. Nutr.**, v. 23, n. 3, p. 461–466, 2012.

SIO, F. et al. Thermoresistance of pectin methylesterase in sanguinello orange juice. **Journal of Food Biochemistry**, v. 25, n. 2, p. 105–115, 2001.

SNIR, R. et al. Total and Thermostable Pectinesterases in Citrus Juices. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 2, p. 379–382, mar. 1996.

STRATAKOS, A. C. et al. Industrial scale microwave processing of tomato juice

using a novel continuous microwave system. **Food Chem.**, v. 190, p. 622–628, 2016.

TAJCHAKAVIT, S.; RAMASWAMY, H. S. Continuous-flow microwave heating of orange juice: Evidence of nonthermal effects. **Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy**, v. 30, n. 3, p. 141–148, 1995.

TAJCHAKAVIT, S.; RAMASWAMY, H. S. Thermalvs. Microwave Inactivation Kinetics of Pectin Methyl esterase in Orange Juice Under Batch Mode Heating Conditions. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 30, p. 85–93, 1997a.

TAJCHAKAVIT, S.; RAMASWAMY, H. S. Continuous-flow microwave inactivation kinetics of pectin methyl esterase in orange juice. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 21, n. 5, p. 365–378, 1997b.

TANG, J. Unlocking Potentials of Microwaves for Food Safety and Quality. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 8, p. E1776–E1793, 2015.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 6.0. São Paulo, 2017. Acesso em: jul. 2018. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca/>

TEPPER, B. J. EFFECTS OF A SLIGHT COLOR VARIATION ON CONSUMER ACCEPTANCE OF ORANGE JUICE. **J. of Sensory Studies**, v. 8, p. 145–154, 1993.

TEWARI, G. Microwave and Radio-Frequency Heating. In: TEWARI, G.; JUNEJA, V. K. (Eds.). . **Advances in Thermal and Non-Thermal Food Preservation**. 1. ed ed. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing, 2007. p. 91–98.

TOLEDO, R. T. **Fundamentals of Food Process Engineering**. 3. ed ed. New York: Springer, 2007.

TRETA PAK. Percepções e Oportunidades de suco 100%: Uma visão global. **Revista CitrusBR**, p. 56, maio 2017.

TRIBESS, T. B. **Estudo da cinética de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja natural minimamente processado**. 2003. 138 f. Dissertação (Mestre em Engenharia) - Departamento de Engenharia Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

TRIBESS, T. B.; TADINI, C. C. Inactivation kinetics of pectin methyl esterase in orange juice as a function of pH and temperature/time process conditions. **Journal**

of the Science of Food and Agriculture, v. 86, n. 9, p. 1328–1335, jul. 2006.

USDA - United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service. Citrus: World Markets and Trade, july 2017. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psonline/circulars/citrus.pdf>>. Acesso em: jul. 2018.

VAN BOEKEL, M. A. J. S. On the use of the Weibull model to describe thermal inactivation of microbial vegetative cells. **International Journal of Food Microbiology**, v. 74, n. 1–2, p. 139–159, 2002.

VAN DEN BROECK, I. et al. Thermal inactivation kinetics of pectinase extracted from oranges. **J. of Food Processing and Preservation**, v. 23, p. 391–406, 1999.

VAN DEN BROECK, I. et al. Kinetics for Isobaric-Isothermal Degradation of L - Ascorbic Acid . **J. of Agricultural and Food Chem.**, v. 46, n. 5, p. 2001–2006, 2002.

VANNUCCHI, H.; ROCHA, M. DE M. Vitamina C (ácido ascórbico). **ILSI Brasil - International Life Sciences Institute do Brasil**, v. 21, n. Vitamina C, p. 1–12, 2012.

VERSTEEG, C. et al. Thermostability and Orange Juice Cloud Destabilizing Properties of Multiple Pectinesterases From Orange. **Journal of Food Science**, v. 45, n. 4, p. 969–971, 1980.

VIKRAM, V. B.; RAMESH, M. N.; PRAPULLA, S. G. Thermal degradation kinetics of nutrients in orange juice heated by electromagnetic and conventional methods. **Journal of Food Engineering**, v. 69, n. 1, p. 31–40, 2005.

VILLAMIEL, M. et al. Assessment of the Thermal Treatment of orange juice during Continuous Microwave and Conventional Heating. **Journal of Food Protection**, v. 78, n. 2, p. 196–200, ago. 1998.

WIBOWO, S. et al. Quality changes of pasteurised orange juice during storage: A kinetic study of specific parameters and their relation to colour instability. **Food Chemistry**, v. 187, p. 140–151, 2015.

WICKER, L.; TEMELLI, F. Heat Inactivation of Pectinesterase in Orange Juice Pulp. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 1, p. 162–164, jan. 1988.

XU, B. et al. Thermal versus Microwave Inactivation Kinetics of Lipase and Lipoxygenase from Wheat Germ. **Journal of Food Process Engineering**, v. 39, n. 3, p. 247–255, 2016.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Ácidos orgânicos do suco de laranja processado em cada binômio de tempo-temperatura.

$T (^{\circ}\text{C})^1$	$t (\text{s})^2$	AA ³	AC ⁴	AM ⁵
70	0	49,64 ± 1,98	7,93 ± 0,23	2,63 ± 0,11
	30	48,33 ± 0,38	7,63 ± 0,16	2,63 ± 0,10
	45	47,64 ± 0,84	7,60 ± 0,16	2,61 ± 0,12
	50	47,61 ± 0,97	7,92 ± 0,16	2,64 ± 0,10
	60	45,84 ± 0,31	7,59 ± 0,18	2,56 ± 0,12
	90	45,04 ± 0,65	7,83 ± 0,15	2,57 ± 0,11
	120	45,07 ± 0,30	7,74 ± 0,18	2,57 ± 0,11
	150	44,51 ± 0,88	7,65 ± 0,14	2,60 ± 0,16
	180	43,60 ± 0,64	7,75 ± 0,20	2,54 ± 0,14
75	0	50,18 ± 1,57	7,98 ± 0,12	2,74 ± 0,13
	55	47,25 ± 1,07	7,94 ± 0,11	2,71 ± 0,06
	60	45,92 ± 0,97	7,92 ± 0,17	2,74 ± 0,13
	75	46,31 ± 0,95	7,84 ± 0,10	2,64 ± 0,11
	90	44,30 ± 0,84	7,85 ± 0,14	2,59 ± 0,13
	120	43,40 ± 0,98	7,79 ± 0,16	2,59 ± 0,15
	150	43,87 ± 0,74	7,44 ± 0,14	2,47 ± 0,14
80	0	49,23 ± 1,15	7,76 ± 0,11	2,59 ± 0,09
	65	47,15 ± 0,89	7,71 ± 0,19	2,61 ± 0,06
	75	45,53 ± 0,72	7,74 ± 0,14	2,65 ± 0,10
	90	44,88 ± 0,50	7,91 ± 0,25	2,69 ± 0,08
	120	44,71 ± 0,55	7,89 ± 0,24	2,59 ± 0,10
	150	43,62 ± 0,52	7,65 ± 0,19	2,58 ± 0,07
85	0	49,51 ± 1,22	8,03 ± 0,13	2,79 ± 0,05
	70	46,46 ± 0,59	7,91 ± 0,09	2,69 ± 0,03
	80	45,89 ± 0,62	7,93 ± 0,07	2,69 ± 0,02
	95	45,17 ± 0,65	7,84 ± 0,10	2,68 ± 0,04
	125	44,74 ± 0,46	7,79 ± 0,05	2,66 ± 0,02
	155	43,26 ± 1,06	7,81 ± 0,12	2,66 ± 0,04
90	0	50,06 ± 0,52	7,85 ± 0,21	2,85 ± 0,08
	75	44,95 ± 0,41	7,75 ± 0,16	2,65 ± 0,06
	85	43,67 ± 0,39	7,80 ± 0,08	2,66 ± 0,03
	100	43,76 ± 0,45	7,79 ± 0,06	2,66 ± 0,02
	130	43,45 ± 0,34	7,77 ± 0,08	2,66 ± 0,03
	160	42,61 ± 0,61	7,68 ± 0,14	2,62 ± 0,07

¹Temperatura-alvo de processo.

²Tempo de exposição.

³Teor de ácido ascórbico expresso em mg/100 mL de suco.

⁴Teor de ácido cítrico expresso em mg/mL de suco.

⁵Teor de ácido málico expresso em mg/mL suco.

APÊNDICE B – Parâmetros de cor do suco de laranja em cada binômio de tempo-temperatura.

$T(^{\circ}\text{C})$	$t(\text{s})$	L^*	a^*	b^*	ΔE	C	h
70	0	$39,09 \pm 0,01$	$-1,83 \pm 0,01$	$34,85 \pm 0,05$	0	$34,90 \pm 0,05$	93,00
	30	$39,09 \pm 0,02$	$-1,83 \pm 0,01$	$34,86 \pm 0,03$	$0,01 \pm 0,09$	$34,91 \pm 0,03$	93,00
	45	$39,14 \pm 0,02$	$-1,84 \pm 0,01$	$34,99 \pm 0,03$	$0,15 \pm 0,08$	$35,04 \pm 0,03$	93,00
	50	$39,33 \pm 0,04$	$-1,85 \pm 0,02$	$35,51 \pm 0,04$	$0,70 \pm 0,09$	$35,56 \pm 0,04$	92,98
	60	$39,63 \pm 0,09$	$-1,94 \pm 0,02$	$35,70 \pm 0,10$	$1,01 \pm 0,18$	$35,75 \pm 0,10$	93,11
	90	$40,05 \pm 0,02$	$-1,98 \pm 0,01$	$36,24 \pm 0,04$	$1,70 \pm 0,09$	$36,30 \pm 0,05$	93,13
	120	$40,46 \pm 0,01$	$-2,08 \pm 0,01$	$37,00 \pm 0,05$	$2,56 \pm 0,09$	$37,06 \pm 0,05$	93,21
	150	$40,61 \pm 0,02$	$-2,12 \pm 0,00$	$37,35 \pm 0,02$	$2,94 \pm 0,07$	$37,41 \pm 0,02$	93,25
	180	$40,81 \pm 0,01$	$-2,20 \pm 0,01$	$37,84 \pm 0,12$	$3,47 \pm 0,16$	$37,90 \pm 0,12$	93,32
75	0	$39,09 \pm 0,02$	$-1,82 \pm 0,02$	$34,86 \pm 0,04$	0	$34,91 \pm 0,04$	92,99
	55	$39,58 \pm 0,05$	$-1,93 \pm 0,02$	$35,65 \pm 0,08$	$0,93 \pm 0,14$	$35,71 \pm 0,08$	93,10
	60	$40,10 \pm 0,03$	$-2,00 \pm 0,01$	$36,33 \pm 0,03$	$1,78 \pm 0,08$	$36,38 \pm 0,03$	93,15
	75	$40,50 \pm 0,01$	$-2,09 \pm 0,00$	$37,11 \pm 0,02$	$2,66 \pm 0,07$	$37,17 \pm 0,02$	93,22
	90	$40,72 \pm 0,01$	$-2,17 \pm 0,00$	$37,55 \pm 0,03$	$3,16 \pm 0,07$	$37,61 \pm 0,03$	93,30
	120	$40,83 \pm 0,02$	$-2,21 \pm 0,01$	$38,05 \pm 0,02$	$3,65 \pm 0,07$	$38,11 \pm 0,02$	93,32
	150	$40,90 \pm 0,00$	$-2,24 \pm 0,00$	$38,31 \pm 0,01$	$3,91 \pm 0,06$	$38,38 \pm 0,01$	93,34
80	0	$39,08 \pm 0,01$	$-1,83 \pm 0,02$	$34,85 \pm 0,03$	0	$34,90 \pm 0,03$	93,01
	65	$40,19 \pm 0,05$	$-2,01 \pm 0,00$	$36,42 \pm 0,02$	$1,92 \pm 0,07$	$36,47 \pm 0,02$	93,16
	75	$40,74 \pm 0,01$	$-2,18 \pm 0,00$	$37,65 \pm 0,02$	$3,27 \pm 0,05$	$37,72 \pm 0,02$	93,31
	90	$40,87 \pm 0,01$	$-2,22 \pm 0,01$	$38,13 \pm 0,04$	$3,76 \pm 0,07$	$38,20 \pm 0,04$	93,33
	120	$40,98 \pm 0,01$	$-2,26 \pm 0,00$	$38,45 \pm 0,03$	$4,09 \pm 0,07$	$38,52 \pm 0,03$	93,36
	150	$41,19 \pm 0,03$	$-2,28 \pm 0,00$	$38,67 \pm 0,03$	$4,39 \pm 0,08$	$38,74 \pm 0,03$	93,37
85	0	$39,11 \pm 0,02$	$-1,82 \pm 0,01$	$34,88 \pm 0,03$	0	$34,93 \pm 0,03$	92,99
	70	$40,30 \pm 0,02$	$-2,01 \pm 0,01$	$36,49 \pm 0,03$	$2,00 \pm 0,06$	$36,54 \pm 0,03$	93,16
	80	$40,87 \pm 0,01$	$-2,22 \pm 0,01$	$38,13 \pm 0,04$	$3,72 \pm 0,07$	$38,20 \pm 0,04$	93,33
	95	$41,05 \pm 0,02$	$-2,27 \pm 0,01$	$38,53 \pm 0,02$	$4,16 \pm 0,06$	$38,60 \pm 0,02$	93,36
	125	$41,30 \pm 0,01$	$-2,29 \pm 0,00$	$38,80 \pm 0,06$	$4,52 \pm 0,08$	$38,87 \pm 0,06$	93,37
	155	$41,37 \pm 0,04$	$-2,30 \pm 0,01$	$39,00 \pm 0,05$	$4,72 \pm 0,10$	$39,07 \pm 0,05$	93,38
90	0	$39,11 \pm 0,01$	$-1,84 \pm 0,01$	$34,90 \pm 0,03$	0	$34,95 \pm 0,03$	93,02
	75	$40,77 \pm 0,02$	$-2,19 \pm 0,00$	$37,70 \pm 0,02$	$3,27 \pm 0,06$	$37,77 \pm 0,02$	93,32
	85	$41,11 \pm 0,02$	$-2,27 \pm 0,00$	$38,59 \pm 0,03$	$4,22 \pm 0,07$	$38,66 \pm 0,03$	93,37
	100	$41,37 \pm 0,04$	$-2,30 \pm 0,01$	$39,00 \pm 0,05$	$4,70 \pm 0,10$	$39,07 \pm 0,05$	93,38
	130	$41,57 \pm 0,02$	$-2,34 \pm 0,01$	$39,22 \pm 0,01$	$4,99 \pm 0,05$	$39,29 \pm 0,01$	93,41
	160	$41,74 \pm 0,03$	$-2,55 \pm 0,10$	$39,35 \pm 0,05$	$5,21 \pm 0,10$	$39,43 \pm 0,06$	93,71