

UFRRJ

INSTITUTO DE TECNOLOGIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

TESE

**Efeitos da pasteurização nas características
físico-químicas, nutricionais,
microbiológicas e enzimáticas do suco da
tangerina Murcote**

André de Souza Dutra

2010



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

**EFEITOS DA PASTEURIZAÇÃO NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-
QUÍMICAS, NUTRICIONAIS, MICROBIOLÓGICAS E ENZIMÁTICAS
DO SUCO DA TANGERINA MURCOTE**

ANDRÉ DE SOUZA DUTRA

Sob a Orientação da Professora
Angela Aparecida Lemos Furtado

e Co-Orientação do Professor
João Oiano Neto

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor em**
Ciências no Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos, Área de Concentração em
Tecnologia de Alimentos.

Serópedica, RJ
Maio de 2010

D978 Dutra, André de Souza.

Efeitos da pasteurização nas características físico-químicas, nutricionais, microbiológicas e enzimáticas do suco da tangerina Murcote / André de Souza Dutra.

103 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Dra. Angela Aparecida Lemos Furtado.

Tese (Doutorado em Ciências) – Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Instituto de Tecnologia, Seropédica, 2010.

Bibliografia: f. 61-71.

1. Pasteurização. 2. Tecnologia de Alimentos. 3. Preservação de alimento. 4. Processamento térmico. 5. Suco de fruta. 6. Fruta cítrica. 7. Citrus reticulata. 6. Tangor murcott. I. Furtado, Angela Aparecida. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Tecnologia. III. Título.

CDD 664.304804

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

ANDRÉ DE SOUZA DUTRA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

TESE APROVADA EM 31/05/2010

Dr.^a. Angela Aparecida Lemos Furtado. Embrapa Agroindústria de Alimentos
(Orientadora)

Dr.^a. Cristiane Hess de Azevedo Meleiro. UFRRJ

Dr. Edmar das Mercês Penha. UERJ

Dr.^a. Helena de Souza Torquilha. IFRJ

Dr. Armando Ubirajara Oliveira Sabaa Srur. UFRRJ

Dr.^a. Suely Pereira Freitas. UFRJ / Escola de Química

À minha Família: Pai, Mãe, Esposa, Irmão e
sobrinhos pelo apoio e carinho.

Especialmente a minha esposa pelo incentivo e
acompanhamento ao longo desta vitória.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Embrapa Agroindústria de Alimentos e a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro pela oportunidade para a realização do curso de Doutorado.

Claro... à minha Orientadora Dr^a. Angela Aparecida Lemos Furtado, pelo apoio, ensinamentos e confiança, etc.

Ao co-orientador Dr. João Oiano Neto pelo apoio, ensinamentos.

A Dr^a. Lourdes Cabral, pela permissão de realização de trabalho de Tese em seu projeto com o suco da tangerina Murcote.

A Capes pela concessão da bolsa, até o momento do meu atual vínculo empregatício.

Aos funcionários da planta de processamento: Sérgio Macedo Pontes (Filé...), Cláudio (Claudão...), Flávia e Luiz Fernando.

Aos funcionários da UFRRJ: Ivanilda, Nilton, Fernando, Lídia, Nádia, pelo incentivo para a realização dos estudos e formação profissional.

Aos colegas de pós: Monique, Alda, Fernanda e Lívia, pelo apoio durante a realização dos experimentos.

A equipe do Laboratório de Cromatografia Líquida: Ronnel, Sidney, Jeane, João Oiano, pelos ensinamentos nas determinações instrumentais e de cromatografia.

À equipe do Laboratório de Microbiologia, em especial a Janine.

A todos de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho

RESUMO

DUTRA, André de Souza. **Efeitos da pasteurização nas características físico-químicas, nutricionais, microbiológicas e enzimáticas do suco da tangerina Murcote**. 2010. 89f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

O consumo de sucos de frutas processados vem crescendo de forma expressiva a cada ano no Brasil. Os aumentos observados na produção da tangerina murcote indicam que a exploração adequada do mercado interno para este tipo de suco pode representar uma nova fonte de recursos para o país. No entanto, a indústria de processamento de sucos cítricos depara-se com alguns problemas no que se refere às características relacionadas à qualidade do suco industrializado. Estes problemas estão relacionados principalmente à necessidade de aperfeiçoamento das condições de processamento térmico, o que pode comprometer de forma significativa a aceitação do produto. Diante do aumento da produção e consumo da tangerina murcote nos mercados nacional e internacional, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da pasteurização nas características físico-químicas, nutricionais, microbiológicas e enzimáticas do suco da tangerina murcote. Os experimentos foram realizados seguindo um ensaio fatorial completo 2^2 , com três pontos centrais e quatro pontos axiais, sendo as variáveis independentes temperatura e tempo dos processos, em uma região de observação de 88°C a 100°C/16 a 44s. Os dados foram avaliados através da ANOVA e pelo teste de Tukey a 5% de significância para verificar a diferença entre médias e adicionalmente pela ANOVA - PLE no programa estatístico *Statistica 7.0* para verificar a influência da temperatura, do tempo e da interação desses parâmetros no conteúdo dos compostos analisados. As condições de pasteurização aplicadas ao suco promoveram a inativação completa da pectinesterase e redução da carga microbiológica em conformidade com os padrões microbiológicos estabelecidos pela RDC nº12/01 da ANVISA. Os açúcares não apresentaram alterações significativas frente aos processamentos realizados. Todas as condições de pasteurização utilizadas reduziram a capacidade antioxidante do suco e a maior redução (34%) foi observada no binômio 100°C/30s. A vitamina C apresentou uma redução significativa de 27% no suco pasteurizado a 100°C/30s e esta redução pode ser descrita através de um modelo quadrático. Em geral os compostos fenólicos totais não apresentaram diferenças significativas para os processos de pasteurização realizados. Os carotenóides apresentaram redução da concentração principalmente na pasteurização realizada a 100°C/30s, porém estas não foram significativas pela ANOVA - PLE. As características físico-químicas (sólidos totais, sólidos solúveis) não foram afetadas pelos tratamentos térmicos aplicados ao suco. Os valores de acidez e pH apresentaram diferenças significativas entre as médias para as diferentes condições de processamento, sendo observada a influência da temperatura e do tempo. O aumento observado para a acidez do suco pasteurizado pode ser descrito através de um modelo quadrático.

Palavras-chave: pasteurização, suco de tangerina murcote, capacidade antioxidante.

ABSTRACT

DUTRA, André de Souza. **Effect of pasteurization on the physico-chemical, nutritional, microbiological and enzymatic characteristics of Murcott tangerine juice.** 2010. 89f. Thesis (Philosophy Doctor in Food Science and Technology). Institute of Technology, Department of Food Technology, Rio de Janeiro Agricultural Federal University, Seropédica, RJ, 2010.

The consumption of pasteurized juice has shown an expressive increase in Brazil each year. The increases observed into the production of Murcott tangerine indicate that an appropriated exploitation of the internal market can represent a new source of budgets to the country. However, the industry of citric juices has faced some problems related to the characteristics and quality of the pasteurized juices. These problems are mainly related to the necessity to improve the conditions of thermal processing, which it can compromise in a significant way the product acceptance. Considering the increases of production and consumption of Murcott tangerine into the national and international market, the main objective of this study was to evaluate the effect of pasteurization on the physico-chemical, nutritional, microbiological and enzymatic characteristics of Murcott tangerine juice. The experiments were carried out by a complete 2^2 factorial design with three central points and four axial points. The process independent variables (temperature and time) were evaluated in a range of 88°C to 100°C/16 to 44s. All data were analyzed by ANOVA and Tukey test with 5% significance level with the purpose to evaluate possible differences between averages. Additionally, the data were analyzed by ANOVA-PLS into the statistical program *Statistica 7.0* to verify the influence of the parameters temperature and time under the concentration of the quantified compounds. The conditions applied on the pasteurization inactivated completely pectinesterase activity and it produced an appropriated microbial reduction in conformity with the parameters established by the regulation ANVISA RDC n°12/01. Sugars content showed no significant changes for all different parameters of processing. The antioxidant capacity has been reduced in all pasteurization conditions with the bigger reduction (34%) been observed for 100°C/30s. Vitamin C concentration presented a significant reduction of 27% for the juice pasteurized at 100°C/30s and this reduction behavior can be described by a quadratic model. In a general way, the phenolic compounds concentrations did not shown significant differences for all process parameters applied. Carotenoids concentration reduced in all experiments mainly when the pasteurization was carried out at 100°C/30s, but these one weren't significant by ANOVA - PLS. The physico-chemical properties (total solids and soluble solids) were not affected by heating treatments applied to juice. The values for acidity and pH showed significant differences between averages for all pasteurization conditions, observing the influence of temperature and time. This behavior of increasing acidity observed for the pasteurized juice can be described by a quadratic model.

Keywords: pasteurization, murcott tangerine juice, antioxidant capacity.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Exportações de tangerinas, Brasil, 1980-2009.....	4
Tabela 2. Variedades de tangerinas plantadas no Estado de São Paulo, 1990 a 2006.....	4
Tabela 3. Composição média da tangerina murcote por 100g de parte comestível.....	5
Tabela 4. Determinações físico-químicas da tangerina murcote.....	5
Tabela 5. Combinações de tratamentos obtidos através do planejamento fatorial completo com ponto central.....	34
Tabela 6. Valores médios da caracterização físico-química do suco de tangerina pasteurizado.....	36
Tabela 7. Teores dos carotenóides totais presentes no suco da tangerina murcote.....	42
Tabela 8. Teores dos carotenóides presentes no suco da tangerina murcote.....	44
Tabela 9. Teor de retinol equivalente (RE) calculado com base nos teores médios de β -caroteno e β -criptoxantina determinados no suco da tangerina murcote.....	48
Tabela 10. Teor dos compostos fenólicos totais presentes no suco da tangerina murcote.....	48
Tabela 11. Teor da vitamina C presente no suco da tangerina murcote.....	50
Tabela 12. Capacidade antioxidante do suco da tangerina murcote.....	52
Tabela 13. Resultados das determinações microbiológicas do suco de tangerina murcote.....	54
Tabela 14. Teores de sacarose, glicose e frutose no suco da tangerina murcote.....	55
Tabela 15. Atividade da pectinesterase presente no suco da tangerina murcote <i>in natura</i> , centrifugado e pasteurizado e respectivas taxas (%) de redução da atividade.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Frutos de tangerina murcote.....	2
Figura 2. Trocador de calor de superfície raspada da Armfield.....	8
Figura 3. Mecanismo de ação das pectinases: (a) R = H para PG e CH ₃ para PMG; (b) PE; e (c) R = H para PGL e CH ₃ para PL. A seta indica a ligação glicosídica na qual as pectinases reagem nas substâncias pécticas. PMG, polimetilgalacturonase; PG, poligalacturonase ; PE, Pectinesterase ; PL, pectiniliase.....	11
Figura 4. Estrutura química dos carotenóides identificados na tangerina murcote.....	15
Figura 5. Rotas de biossíntese dos compostos fenólicos em plantas.....	18
Figura 6. Principais classes de compostos não-flavonoídicos.....	19
Figura 7. Estrutura química do núcleo flavano.....	20
Figura 8. Mecanismo de conversão do ácido L-ascórbico em ácido deidroascórbico.....	20
Figura 9. Comportamento espectral do ABTS.....	24
Figura 10. Frutos selecionados da tangerina murcote.....	26
Figura 11. Etapas do processamento térmico do suco da tangerina murcote.....	26
Figura 12. Extrator de sucos modelo Bonina da Itametal-Brasil.....	27
Figura 13. Centrífuga de cesto modelo SIZE 2 (International Equipment Company).....	27
Figura 14. Trocador de calor da Armfield FT25D SSHE (Armfield, England).....	28
Figura 15. Envase do suco de tangerina pasteurizado em embalagens de vidro em unidade ultralimpa.....	28
Figura 16. Titulador e pHmetro automático da Metrohm.....	29
Figura 17. Refratômetro de Abbé.....	29
Figura 18. Cromatógrafo Waters Alliance 2695.....	31
Figura 19. Gráfico de Pareto para os sólidos totais.....	37
Figura 20. Gráfico de Pareto para os sólidos solúveis (°Brix).....	38
Figura 21. Gráfico de Pareto para os valores de pH.....	39
Figura 22. Gráfico de Pareto para os valores de acidez titulável (% ácido cítrico).....	40
Figura 23. Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) para o aumento da acidez titulável (expressa % ácido cítrico).....	41
Figura 24. Gráfico de Pareto para os valores de carotenóides totais expressos em µg de β-criptoxantina.100mL ⁻¹	43
Figura 25. Gráficos de Pareto das variáveis luteína (a), zeaxantina (b), β-criptoxantina (c) e β-caroteno (d).....	47
Figura 26. Gráfico de Pareto dos compostos fenólicos totais.....	49
Figura 27. Gráfico de Pareto da vitamina C.....	51
Figura 28. Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) para a redução da vitamina C.....	52
Figura 29. Gráfico de Pareto para capacidade antioxidante.....	53
Figura 30. Gráficos de Pareto das variáveis sacarose (a), glicose (b) e frutose (c).....	57

LISTA DE ABREVIÇÕES E SÍMBOLOS

- AA – Ácido ascórbico
- ABIR – Associação brasileira das indústrias de refrigerantes e bebidas não-alcoólicas
- ABTS – [ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) dianônio]
- ANOVA – análise de variância
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- AOAC – American Organization agricultural chemists
- BAL – Bactérias ácido-láticas
- CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência
- CUPRAC - *copper reduction assay*
- DCFI - 2,6-diclorobenzenoindofenol
- DHAA – ácido dehidroascórbico
- DNA – ácido desoxirribonucleico
- DPPH – *Diphenyl-2-picrylhydrazyl*
- DRBC - Ágar dextrose rosa bengala clorofenicol
- EMBRAPA – Empresa brasileira de pesquisa agropecuária
- ET – Transferência de elétrons
- FRAP - *ferric ion reducing antioxidant parameter*
- IAC – Instituto Agrônomo de Campinas
- IOU - *inibited oxygen uptake*
- LDL - Lipoproteína de baixa densidade
- MDIC – Ministério do Comércio, Indústria e Comércio Exterior
- N - Nitrogênio
- NEPA – Núcleo de estudos e pesquisas em alimentação
- NMP – Número mais provável
- ORAC - *oxygen radical absorbance capacity*
- PAL - Fenilalanina amônia-liase
- PE – Pectinesterase
- PG – Poligalacturanase
- pH – potencial de hidrogênio
- PL - Pectiniliase
- PME – Pectina metil esterase

PMG – Polimetilgalacturonase
PMUmL ou PMUg - equivalente de éster hidrolisado por minuto
PPase – Protopectinase
RDC –Resolução da Diretoria Colegiada
ROS – Espécies reativas de oxigênio
RNS - Espécies reativas de nitrogênio
RPM – rotações por minuto
s – segundos
SECEX – Secretária do Comércio Exterior
SS – Sólidos solúveis
TACO – Tabela brasileira de composição de alimentos
TEAC – Trolox equivalent antioxidant capacity
TOSC - *total oxidant scavenging capacity assay*
TRAP - *total radical trapping antioxidant parameter*
TROLOX - Trolox® (ácido 6-hidroxi-2-5-7-8-tetrametilcromo2-carboxílico)
UFC –Unidade formadora de colônia
USDA - United States Department of Agriculture
°C – graus Celsius
μM - micromol

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Características Gerais Sobre o Tangor Murcott	2
2.2 Aspectos Produtivos e Econômicos Sobre a Tangerina Murcote.....	3
2.3 Características Físico-Químicas da Tangerina Murcote.....	5
2.4 Aspectos Importantes Sobre o Consumo de Sucos Processados.....	6
2.5 Processamento Térmico.....	6
2.5.1 Trocadores de calor.....	7
2.6 Principais Fatores da Deterioração em Suco de Frutas Cítricas.....	8
2.7 Enzimas Pectinolíticas (Pectinases).....	9
2.7.1 Pectinesterases.....	11
2.7.2 Efeito indesejável da ação da pectinesterase em suco de frutas cítricas.....	12
2.7.3 Efeito do processamento térmico na atividade da enzima pectinesterase.....	12
2.8 Compostos Bioativos com Propriedades Antioxidantes.....	13
2.9 Carotenóides	14
2.9.1 Importância dos carotenóides para a saúde humana.....	15
2.9.2 Efeito do processamento térmico na composição dos carotenóides.....	16
2.10 Compostos Fenólicos.....	16
2.10.1 Caracterização química dos compostos fenólicos.....	17
2.10.2 Compostos fenólicos nas frutas cítricas.....	20
2.11 Vitamina C (ácido ascórbico).....	20
2.12 Capacidade Antioxidante.....	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 Matéria-prima.....	25
3.2 Preparo da Matéria-Prima e Obtenção do Suco.....	25
3.3 Pasteurização do Suco de Tangerina.....	27
3.4 Análises.....	29
3.4.1 Análise de acidez titulável.....	29
3.4.2 Análise de pH.....	29
3.4.3 Análise de sólidos solúveis.....	29
3.4.4 Determinação dos sólidos totais.....	30
3.4.5 Determinação da composição dos carotenóides por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	30
3.4.6 Análise de açúcares (frutose, glicose e sacarose).....	31
3.4.7 Análise de vitamina C.....	31
3.4.8 Análise da capacidade antioxidante.....	32
3.4.9 Análise de compostos fenólicos totais.....	32
3.4.10 Análise da atividade de pectinesterase.....	32
3.4.11 Análise microbiológica do suco.....	33
3.4.12 Planejamento Experimental.....	34
3.4.13 Análise estatística dos dados.....	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1 Propriedades físico-químicas do suco da tangerina murcote.....	36
4.1.1 Sólidos totais.....	36
4.1.2 Sólidos solúveis.....	37
4.1.3 Valores de pH e acidez.....	38
4.2 Carotenóides.....	42

4.3 Compostos fenólicos totais.....	48
4.4 Vitamina C.....	49
4.5 Capacidade Antioxidante.....	52
4.6 Análises Microbiológicas.....	53
4.7 Açúcares.....	54
4.8 Atividade enzimática da pectinesterase.....	57
5 CONCLUSÕES.....	59
6 RECOMENDAÇÕES DE PESQUISA.....	60
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
ANEXOS.....	72
A - Tabelas de análise de variância.....	73
B - Tabelas dos coeficientes de regressão para as variáveis significativas.....	79
C – Cromatogramas característico da análise da composição e perfil dos carotenóides.....	81
D – Espectros dos respectivos carotenóides identificados no suco da tangerina murcote.....	87
E – Cromatograma característico da análise de açúcares.....	89

1 INTRODUÇÃO

As tangerinas (*Citrus reticulata* Blanco) ganham, a cada dia, maior preferência entre os consumidores brasileiros. Os produtores estão aprendendo a superar as barreiras que cerceiam sua produção econômica, notadamente os problemas relacionados a pragas e doenças.

O *tangor Murcott* é o principal híbrido da tangerina plantado no Brasil, sendo mais conhecido nacionalmente como tangerina “Murcote”. Os frutos podem ser utilizados para diversas finalidades, principalmente a produção de suco concentrado congelado e suco pasteurizado envasado em embalagens hermeticamente fechadas, destinado ao mercado interno e externo.

Segundo Figueiredo et al. (2006) o rendimento de suco da tangerina murcote é adequado e representa em torno de 50% da massa do fruto, apresentando excelente qualidade na sua coloração, sabor e teor de açúcares.

Em escala mundial, o conhecimento sobre o suco de tangerina é expressivamente reduzido comparado com o suco de laranja (SENTANDREU et al., 2005). Na Espanha, o processamento do suco de tangerina é baixo quando comparado com o suco de laranja, porém, vem ocorrendo constantes aumentos devido à saturação no mercado pelas frutas para consumo *in natura*.

No processamento industrial de sucos, a pasteurização é o método de conservação mais empregado, apresentando duas funções básicas: reduzir a carga microbiana inicial a níveis aceitáveis (microbiologicamente seguro) e inativar complexos enzimáticos existentes que possam causar alterações sensoriais do produto.

Em ambos os casos o objetivo é aumentar a vida útil do suco (PÉREZ-LÓPEZ; CARBONELL-BARRACHINA, 2006). No entanto, nos dias atuais, além das funções básicas do processamento térmico (pasteurização), este tipo de metodologia tem por objetivo proporcionar uma maior preservação das características nutricionais (teores de vitaminas) e sensoriais (sabor, aroma, etc.) do suco quando comparado ao fruto *in natura*.

A inativação da enzima pectinesterase no processamento térmico do suco de frutas cítricas é muito importante. Esta enzima a princípio é responsável pela perda da qualidade do suco não processado termicamente, devido à sua atuação catalítica na hidrólise dos grupos metoxila, presentes na pectina, gerando grupos carboxílicos livres.

A ação da enzima promove a perda da turbidez e concentração do produto, entretanto sua maior importância está na definição das condições de temperatura e tempo da pasteurização térmica, uma vez que apresenta resistência térmica à inativação maior que as dos microrganismos (TORRES et al., 2008; SUGAI et al., 2002).

Neste contexto o objetivo geral deste trabalho foi avaliar os efeitos da pasteurização nas características físico-químicas, nutricionais, microbiológicas e enzimáticas do suco da tangerina murcote.

Como objetivos específicos podem-se descrever:

- Avaliar o efeito das diferentes condições de pasteurização térmica na atividade da enzima pectinesterase;
- Avaliar a influência da pasteurização térmica sobre a composição dos açúcares, carotenóides totais e perfil de carotenóides, compostos fenólicos totais, concentração da vitamina C e capacidade antioxidante;
- Avaliar a influência da pasteurização na estabilidade microbiológica do suco;
- Determinar as melhores condições de pasteurização para o suco de tangerina.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Características Gerais Sobre o *Tangor Murcott*

O *tangor Murcott* pertence à família Rutaceae, sendo um híbrido de tangerina (*Citrus reticulata* Blanco) com laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osb.). Foi originado de um pomar abandonado do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) nas proximidades de Miami - Flórida e propagado pela primeira vez por Charles Murcott Smith, ficando conhecida nos Estados Unidos pelo nome de *Murcott*.

Atualmente nesse país possui o nome oficial de tangerina *Honey* e no Brasil é mais conhecida como tangerina *Murcote* (AZEVEDO; PIO, 2002). Suas árvores e frutos possuem diversas características de uma tangerina típica, tais como: alto vigor, hábito de crescimento ereto e folhas lanceoladas entre outras (DAVIES; ALBRIGO, 1994).

No Brasil foi introduzida pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) em 1948 para ser avaliado como porta-enxerto em presença do vírus da tristeza dos citros. O interesse pelo cultivar somente foi despertado na década de 60, motivado pela maturação tardia dos frutos que são consumidos no mercado interno e externo, além da possibilidade de uso pela indústria (BARBASSO, 2005)

Seus frutos são de tamanho médio, massa média de 140g, cerca de 20 sementes por fruto, formato achatado, com uma pequena cavidade no seu eixo central. Sua casca, quando o fruto está maduro, é de cor laranja vivo e sua textura é firme; seu suco é abundante, representando cerca de 50% da massa do fruto, com teor de sólidos solúveis de 12,6° Brix e 0,92% de acidez titulável (DAVIES; ALBRIGO 1994; FIGUEIREDO, 1991).



Figura 1. Frutos de tangerina murcote

O fruto típico do citros é o hesperídeo, com casca formada por duas partes distintas – o albedo e o flavedo. O albedo é a parte mais espessa do mesocarpo, de cor branca, e o flavedo é a mais externa, rica em glândulas que contém óleos essenciais. Internamente o fruto é dividido em diversos segmentos, chamados comumente de gomos.

Os segmentos revestidos por finas paredes membranosas contem as vesículas de suco e as sementes. O suco presente nas vesículas contém açúcares, ácidos orgânicos, sais minerais, enzimas e pigmentos (carotenóides) (KOLLER, 1994).

A produção brasileira de murcote é destinada atualmente para os mercados interno e externo para o consumo *in natura* (FIGUEIREDO, 1991). Entre os anos de 1998 a 2001 houve um aumento aproximado de 18% do volume de murcote comercializado no CEAGESP – SP. No mesmo período, verificou-se queda de 18,75% no preço deste produto, sendo comercializadas 22240 toneladas deste fruto no entreposto do CEAGESP-SP (FNP CONSULTORIA E COMÉRCIO, 2005).

Embora a tangerina murcote seja a variedade mais exportada, devido às suas qualidades sensoriais e boa aceitação no mercado, os valores exportados de tangerina representam apenas 3% da produção nacional (AMARO; CASER, 2003).

A murcote é um fruto de maturação tardia e no Brasil o pico de sua produção ocorre entre os meses de agosto e novembro (FIGUEIREDO, 1991). Apresenta padrão respiratório característico de fruto não climatérico, pois apresenta declínio na sua taxa respiratória em função do tempo, sendo fator determinante na longevidade das frutas na pós-colheita.

2.2 Aspectos Produtivos e Econômicos Sobre a Tangerina Murcote

A produção mundial de frutos cítricos experimentou forte crescimento nas últimas décadas, quando os níveis de consumo total e *per capita* cresceram de forma inesperada.

Uma ampla visão do consumo mostra uma enorme divergência entre os hábitos da população dos países asiáticos que prefere as tangerinas e a do Ocidente que consome laranjas e suco de laranja processado (CASER; AMARO, 2006). Todavia, a apreciação das tangerinas também começa a crescer no Ocidente e já representam 17% de toda a produção mundial de frutas cítricas, cuja tendência é continuar em expansão.

Os maiores aumentos foram observados na Espanha, com suas bem-sucedidas exportações da tangerina Clementina sem sementes dentro da Europa e, mais recentemente, para os Estados Unidos.

As tangerinas diferem das laranjas, porque sua produção destina-se quase que exclusivamente ao mercado de frutas frescas. Os maiores produtores são China, Espanha e Japão que em conjunto perfazem 62% do total mundial de 14 milhões de toneladas, seguidos por Brasil, Coréia, Paquistão, Itália, Turquia, Egito e Estados Unidos (CASER; AMARO, 2006).

A Espanha responde por mais da metade de toda a exportação mundial de tangerinas e a China, com sua produção de 6 milhões de toneladas, é considerada atualmente o exportador mais potencial (CASER; AMARO, 2006).

As exportações brasileiras de tangerinas enfrentam ainda muitas barreiras tarifárias e técnicas que precisam ser superadas localmente como a armazenagem e, principalmente, os períodos de maturação e colheita muito estreitos, além da deficiência de equipamentos especiais para os tratamentos pós-colheita que aumentariam a sua vida de prateleira e, conseqüentemente, o seu valor.

Ainda assim, o Brasil registrou no período de 1990 a 2002 um aumento acentuado nos volumes exportados chegando a 19.554 toneladas. Porém nos últimos anos verificou-se uma redução no volume exportado e, concomitantemente, a fruta veio se valorizando até 2008 quando os preços médios chegaram a US\$854 a tonelada.

Porém, em 2009, por motivos de recessão econômica mundial, observou-se uma redução no volume exportado e no valor da tonelada do fruto (Tabela 1).

Tabela 1. Exportações de tangerinas, Brasil, 1980-2009

Ano	Volume (tonelada)	Valor (US\$1.000)	Preço Médio (US\$/t)
1980	11.777	3.587	304
1985	4.101	1.169	285
1990	4.621	1.417	307
1995	7.933	3.243	409
2000	12.032	4.977	414
2001	17.258	6.697	388
2002	19.554	7.016	359
2003	18.312	6.197	330
2004	18.014	8.191	450
2005	12.475	6.256	501
2006	10.713	5.691	531
2007	6.127	4.233	690
2008	6.761	5.776	854
2009	4.412	3.282	744

Fonte: SECEX (2010)

O estado de São Paulo é o maior produtor, porém apresenta pequena diversidade reunindo apenas quatro variedades comerciais: tangerinas murcote, poncã, cravo e mexerica do Rio.

Tal fato tem acarretado, ao longo dos anos, alta vulnerabilidade, restando poucas chances de escolha para o consumidor brasileiro. Dentre essas variedades, somente a murcote é exportada e com restrições devido ao número excessivo de sementes dos seus frutos. Entretanto, no Estado estão sendo implantados, na região sudoeste, pomares comerciais de tangerinas sem sementes, próprias aos mercados externos, tendo em vista as excelentes condições edafoclimáticas da região (PIO, 2003).

No Estado de São Paulo, poncã e murcote são ainda as variedades mais plantadas. Nos últimos anos, tem aumentado o percentual de plantio da murcote como exigência do mercado, pois apresenta características adequadas para a produção de suco (Tabela 2).

Tabela 2 - Variedades de tangerinas plantadas no Estado de São Paulo, 1990 a 2006

Variedade (em %)	1990	1995	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Mexerica	9	13	9	9	8	8	8	7	6
Murcote	22	16	20	20	23	24	25	28	29
Poncã	49	58	62	60	58	54	57	54	54
Cravo e n.e.	20	13	9	10	11	13	10	11	10

Fonte: Boletim Laranja (IAC, n.º.11, 1990), Citricultura Brasileira (Fundação Cargill, 2ª edição) e Instituto de Economia Agrícola

2.3 Características Físico-químicas da Tangerina Murcote

Parte da Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos (TACO) apresentada na Tabela 3 apresenta a composição média da tangerina murcote por 100g da parte comestível. Esta tabela foi elaborada pelo Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Segundo Nepa (2006), o conhecimento da composição dos alimentos consumidos no Brasil é fundamental para se alcançar à segurança alimentar e nutricional. As informações de uma tabela de composição de alimentos são pilares básicos para a educação nutricional, o controle da qualidade dos alimentos e a avaliação da ingestão de nutrientes de indivíduos ou populações.

Tabela 3. Composição média da tangerina murcote por 100g de parte comestível

Umidade	83,7 %	Manganês	0,05mg
Energia	58 Kcal	Ferro	0,1mg
Carboidrato	14,9g	Sódio	1,0mg
Proteínas	0,9g	Potássio	159mg
Lipídeos	0,1g	Cobre	0,06mg
Fibra	3,1g	Zinco	0,1mg
Cinzas	0,5g	Tiamina	0,08mg
Cálcio	33mg	Riboflavina	0,07mg
Magnésio	12mg	Piridoxina	0,05mg
Fósforo	19mg	Vitamina C	21,8mg

Fonte: Nepa (2006)

Segundo Santana et al. (2010), em estudo realizado para a caracterização físico-química de variedades de tangerina do banco ativo de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, a tangerina murcote apresentou os seguintes resultados mostrados na Tabela 4.

Tabela 4. Determinações físico-químicas da tangerina murcote

Acidez (g de ácido cítrico/100 g de suco)	0,79 ± 0,04
Açúcar redutor (g de glicose/100g de suco)	3,7 ± 0,2
Açúcar total (g de glicose/100g de suco)	8,1 ± 0,3
Carotenóides totais (µg/g de suco)	19,1 ± 0,4
Cinzas (g/100g de suco)	0,32 ± 0,02
Extrato etéreo (g/100 g de suco)	0,09 ± 0,01
pH	3,6 ± 0,1
Proteína (g/100g de suco)	0,53 ± 0,04
Ratio	13,7 ± 1,2
Rendimento de suco (%)	53,7 ± 1,8
Sólidos solúveis totais (°Brix)	10,7 ± 0,5
Umidade (g/100g de suco)	89,2 ± 1,7
Vitamina C (mg/100g de suco)	25,7 ± 1,4

Fonte: Santana et al. (2010)

2.4 Aspectos Importantes Sobre o Consumo de Sucos Processados

O consumo de sucos processados, como suco de laranja, gera divisas financeiras extremamente significativas nas exportações de diversos países.

O consumo de sucos vem crescendo de forma expressiva a cada ano, apresentando no período de 2006 para 2007 um aumento de 18% no volume produzido, totalizando 472 milhões de litros de sucos prontos (ABIR, 2009).

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e Bebidas Não Alcoólicas (ABIR, 2009), a cada ano novas marcas, sabores, composições e embalagens de sucos prontos surgem nas prateleiras dos supermercados em todo o Brasil. Desta forma, a exploração adequada do suco de tangerina no mercado interno pode representar uma nova e expressiva fonte de recursos para o país.

No entanto, a indústria de processamento de sucos cítricos depara-se com alguns problemas no que se refere às características relacionadas à qualidade do suco industrializado.

Estes problemas estão relacionados principalmente à necessidade de otimizar as condições de processamento térmico, o que pode comprometer de forma significativa a aceitação do produto.

2.5 Processamento Térmico

O processamento térmico continua sendo um dos métodos mais utilizados na conservação dos alimentos (RIBEIRO, 2009). O principal objetivo do processamento térmico é inativar complexos enzimáticos e os microrganismos patogênicos e deteriorantes, obtendo um alimento em condições seguras para o consumo humano.

Dentre os métodos de processamento térmico aplicados em alimentos, temos a pasteurização e a esterilização.

A palavra pasteurização é empregada em homenagem à Louis Pasteur, cientista renomado que entre os anos de 1854 a 1864 contribuiu de forma significativa com seus experimentos para os métodos térmicos de conservação dos alimentos. Seus estudos mostraram que os tratamentos térmicos destruíam os tipos indesejáveis de microrganismos associados à deterioração dos alimentos e as ocorrências de doenças patogênicas (GUTIERREZ, 2008).

A pasteurização é um tratamento térmico controlado e realizado com temperaturas inferiores a 100°C, em que o alimento é resfriado após um determinado tempo de aquecimento. Este processo busca garantir a segurança microbiológica, aumentando a vida-de-prateleira e preservando as características nutricionais e sensoriais dos alimentos (GUTIERREZ, 2008).

Além disso, apresenta grande aplicação em produtos alimentícios que serão posteriormente armazenados em condições que minimizam o crescimento bacteriano como a refrigeração, uso de aditivos químicos e de embalagens herméticas (FONSECA, 1984).

Segundo Elez-Martínez e Martín-Belloso (2007), a pasteurização é considerada um importante método de conservação para os sucos de frutas cítricas, pois aumenta a sua estabilidade durante o transporte e a comercialização.

Deve ser ressaltado que durante o processamento térmico, diversas reações químicas, bioquímicas e físicas podem ocorrer, podendo afetar a qualidade e a aceitabilidade do produto. Portanto, os parâmetros de temperatura e tempo devem ser bem definidos, a fim de não inativar somente os microrganismos e as enzimas, como também minimizar as perdas nutricionais e sensoriais das frutas durante o processamento (SUGAY, 2007).

Estudos recentes foram realizados a fim de avaliar os efeitos dos processamentos térmicos nos alimentos. Dentre eles têm-se os estudos realizados por Lee e Coates (2003)

sobre alterações de cor e aroma em suco de laranja. No trabalho realizado por Gama e Sylos (2007) foi estudado o efeito do tratamento térmico na composição dos carotenóides no suco de laranja Valência brasileira.

Na busca por metodologias capazes de aumentar a vida de prateleira dos alimentos, preservando suas características nutricionais e sensoriais, o tratamento térmico tem-se mostrado como um dos mais importantes métodos de conservação.

Para sucos de frutas, o principal objetivo do tratamento térmico consiste na redução dos microrganismos que existem inicialmente e dos que possam crescer posteriormente advindos da manipulação durante seu processo de obtenção; além de ser aplicado na inativação de enzimas que podem provocar escurecimento e o aparecimento de sabores indesejáveis.

Tradicionalmente, a maioria dos sucos que apresentam pH menor ou igual a 4,5 são pasteurizados durante poucos segundos em temperaturas entre 60 e 100°C.

Atualmente os consumidores estão buscando não só alimentos que apresentam uma vida de prateleira prolongada, mas também aqueles que apresentam em sua composição compostos nutricionais e funcionais. Diante disso, as empresas vêm se empenhando para satisfazer as exigências dos consumidores através da otimização dos seus processamentos térmicos (RIVAS et al., 2006).

A pasteurização é um processo térmico designado para inativar parte, mas não todos os microrganismos presentes nos alimentos. Não sendo o alimento estéril, a pasteurização deve ser usada conjuntamente com outros métodos de preservação como a fermentação, refrigeração, manutenção de condições anaeróbias (DOMINGUES, 2003).

Apesar de não destruir os microrganismos esporogênicos, a pasteurização é empregada na conservação de sucos de frutas ácidas, cujo meio está sujeito, sobretudo, ao crescimento de bolores e leveduras, os quais são facilmente destruídos pelas temperaturas utilizadas na pasteurização (SILVA, 2000).

Além disso, a pasteurização é um processo de conservação indicado para a redução de microrganismos mesófilos, os quais apresentam maior desenvolvimento na faixa dos 35°C, não suportando temperaturas superiores a 65°C. O tempo e a temperatura utilizados dependem da resistência térmica dos microrganismos e da sensibilidade do próprio alimento ao calor.

Não obstante à busca por condições de conservação mais adequadas para um dado alimento, o tratamento térmico visa também manter as suas características nutricionais, assim como sensoriais.

2.5.1 Trocadores de calor

O aquecimento e o resfriamento de alimentos líquidos podem ser conduzidos em trocadores de calor, que são equipamentos que transferem energia térmica entre dois fluidos com temperaturas diferentes.

Podem ser classificados em trocadores de calor a placas, tubulares ou de superfície raspada (Figura 2), de acordo com o formato da superfície de transferência de calor.



Figura 2. Trocador de calor de superfície raspada da Armfield

Segundo Sugay (2007), os trocadores de calor de superfície raspada são recomendados para todos os fluidos independente da viscosidade. Porém, são mais indicados para produtos mais viscosos ou que contenham algumas partículas sólidas devido ao seu alto custo de manutenção.

2.6 Principais Fatores da Deterioração do Suco de Frutas Cítricas

Corrêa-Neto e Faria (1999) afirmaram que a qualidade do suco é influenciada basicamente por fatores microbiológicos, enzimáticos, químicos e físicos que comprometem suas características sensoriais e nutricionais.

Segundo Pinheiro et al. (2006), os sucos de frutas são consumidos e apreciados em todo o mundo, não só pelo seu sabor, mas, também, por serem fontes naturais de carboidratos, carotenóides, vitaminas, minerais e outros componentes importantes.

O suco de laranja é considerado um alimento ácido e, portanto sua deterioração de natureza microbiológica está associada à proliferação de bactérias lácticas, leveduras e fungos que lhe conferem odor e sabor desagradáveis (HATCHER et al., 1992).

Oliveira et al. (2006) descreveu que a população microbiana do suco de laranja é derivada de fatores que vão desde as etapas de produção primária da fruta até o preparo do suco para o consumo final e que as bactérias ácido-láticas (BAL) e leveduras são os microorganismos que melhor se adaptam ao ambiente de baixo pH e altas concentrações de açúcares, sendo este o ambiente característico do suco de laranja.

Os gêneros *Lactobacillus* e *Leuconostoc* são os representantes mais comuns dentro do grupo das BAL (PARISH; HIGGINS, 1988; HATCHER et al., 1992), sendo que os gêneros mais representativos das leveduras são *Saccharomyces* e *Candida* (PARISH, 1991).

Para as leveduras a temperatura ótima para o crescimento está entre 20°C e 30°C e geralmente são mais resistentes ao calor que as bactérias e bolores. As leveduras mais comuns

em sucos cítricos pasteurizados são as das espécies *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodoturula* e *Zygosaccharomyces* (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Os bolores, por sua vez, não apresentam muitas exigências em relação a nutrientes, atividade de água ou “água livre”, temperatura e acidez para seu crescimento, podendo se proliferar em temperaturas de até 60°C e pH próximo de zero.

Os bolores mais encontrados no suco de laranja pasteurizado são *Aureobasidium pullulans* e *Penicilium*, microrganismos estes que não causam danos à saúde dos consumidores. Existem, porém, alguns fungos termoresistentes, como os do gênero *Byssochlamys* que podem deteriorar o produto através da produção de enzimas pécnicas e produção de gases proporcionado o estufamento das embalagens de sucos hermeticamente fechadas (CORRÊA-NETO; FARIA, 1999; FRANCO; LANDGRAF, 1996).

A presença da enzima pécnica pectinesterase também é de extrema importância no processamento de sucos de frutas cítricas, sendo a causa de um dos maiores problemas técnicos de deterioração em suco de frutas cítricas (CHAMARRO et al., 1991).

2.7 Enzimas Pectinolíticas (Pectinases)

As “pectinases” ou “enzimas pectinolíticas” são enzimas que hidrolisam substâncias pécnicas (JAYANI, 2005). Os substratos para enzimas pécnicas podem ser: pectinas ou ácidos pectínicos, ácidos pécnicos ou protopectinas.

Segundo nomenclatura adotada pela *American Chemical Society*, “pectina ou ácidos pectínicos” são designados por ácidos poligalacturônicos de variados teores de ésteres metílicos e diferentes graus de neutralização que apresentam propriedades coloidais e são capazes de formar, sob certas condições, gel quando em presença de açúcar ou ácido.

“Ácidos Pécnicos” são ácidos poligalacturônicos de natureza coloidal, mas necessariamente livres dos grupos de ésteres metílicos.

A “Protopectina” é uma substância insolúvel em água, parente de substâncias pécnicas que ocorrem em plantas, que sob hidrólise ácida parcial produz pectinas de vários tipos.

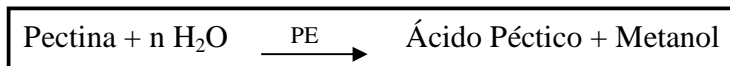
As enzimas pectinolíticas podem ser divididas em vários grupos, podendo ser classificadas pelo modo de ação. Desta forma, são classificadas em: desesterificantes ou desmetoxilantes (pectinesterase), despolimerizantes (hidrolases e liases) e protopectinases (UENOJO; PASTORE, 2007).

Sua classificação ainda pode ser baseada na preferência pelo substrato, como o ácido pécnico ou pectato, que são os ácidos poligalacturônicos que não apresentam metoxilação e o ácido pectínico ou pectina, que são os ácidos poligalacturônicos que contêm quantidades variáveis de grupos metoxilas (ALKORTA et al., 1997).

Segundo Uenojo e Pastore (2007) as principais pectinases são apresentadas abaixo:

✓ Desesterificantes ou desmetoxilantes

- *Pectinesterase (PE)*: a pectinesterase também referida como pectinametilesterase, pectase ou pectina metoxilase, pertence ao grupo das esterases (ou desesterificantes). Catalisa a desesterificação de ésteres metílicos das ligações galacturônicas de substâncias pécnicas, resultando em ácido pécnico e metanol, conforme reação abaixo:



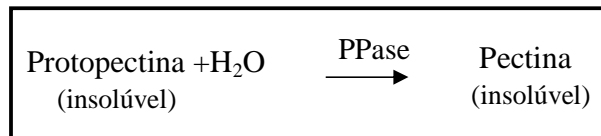
✓ Despolimerizantes

Hidrolases – incluem as polimetilgalacturanases e as poligalacturanases.

- *Polimetilgalacturanases (PMG)*: hidrolisa polimetil-galacturonatos a oligometilgalacturonatos por clivagem de ligações $\alpha(1,4)$.
- *Poligalacturonases (PG)*: são enzimas que catalisam a hidrólise das ligações glicosídicas $\alpha(1-4)$ de ácidos poligalacturônicos. Pertence ao grupo das despolimerases / hidrolases e estão entre as principais na família das pectinolíticas, sendo classificadas como *endo* (randômica) e *exo* (a partir do final da molécula) na ação e preferência por ácido péctico ou pectina como substrato.

Liases – também chamadas de transeliminases, participam da quebra não-hidrolítica de pectatos ou pectinatos, caracterizado pela divisão transeliminativa de polímeros pécticos. As liases quebram as ligações glicosídicas no carbono C-4 e simultaneamente elimina o hidrogênio do carbono C-5, produzindo uma ligação dupla entre os carbonos C-4 e C-5. São constituídas pelas enzimas pectina liases e as pectato liases.

✓ Protopectinases (PPase): hidrolisam a protopectina insolúvel em água, produzindo pectina solúvel altamente polimerizada. Também pode ser chamada de pectinosinase. A reação abaixo mostra a ação da protopectinase.



A Figura 3 mostra o mecanismo de ação das enzimas pectinolíticas:

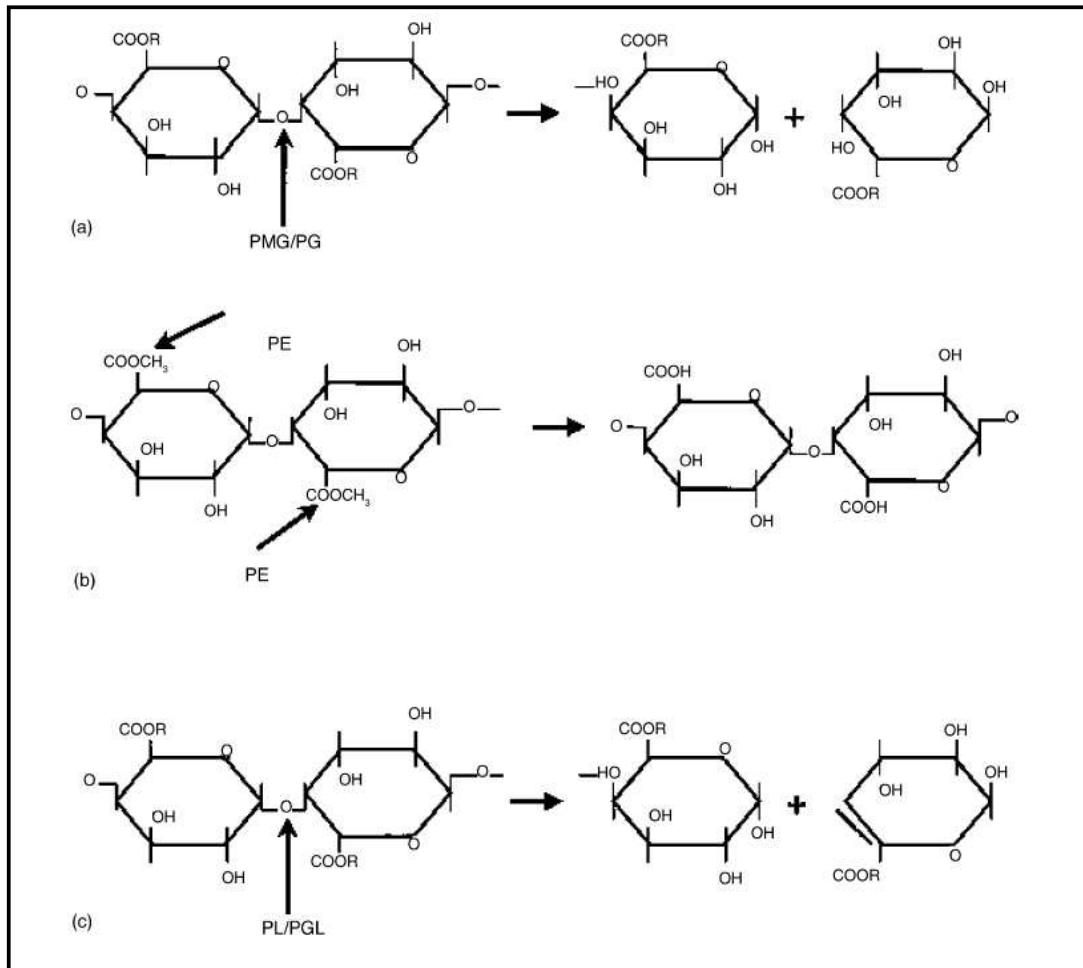


Figura 3. Mecanismo de ação das pectinases: (a) R = H para PG e CH₃ para PMG; (b) PE; e (c) R = H para PGL e CH₃ para PL. A seta indica a ligação glicosídica na qual as pectinases reagem nas substâncias pécicas. PMG, polimetilgalacturonase; PG, poligalacturonase ; PE, Pectinesterase ; PL, pectiniliase
 Fonte: (Jayani, 2005)

2.7.1 Pectinesterases

As pectinesterases são amplamente distribuídas em vários vegetais. Têm sido isoladas de diferentes origens e apresentam diferentes propriedades cinéticas, até mesmo quando num mesmo fruto de variedade diferente (FAYYAZ et al., 1995).

A pectinesterase pode ser produzida por plantas, por bactérias patogênicas e por fungos. Dentre os microrganismos produtores da PE já foram citados *Rhodotorula* sp., *Phytophthora infestans*, *Erwinia chrysanthemi*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lachnospira pectinoschiza*, *Pseudomonas solanacearum*, *Aspergillus niger*, *Lactobacillus lactis* ssp. *Cremoris*, *Penicillium frequentans*, *E. chrysanthemi*, *Penicillium occitanis*, *A. japonicus*, entre outros (JAYANI, 2005)

Em relação à ocorrência em plantas podem ser citados vegetais como: frutas cítricas (*Citrus* sp.), mamão (*Carica papaya* L.), tomate (*Lycopersicum esculentum*), maçã (*Prunus*

malus), uva (*Vitis vinifera*), sapota (*Pouteria sapota*) e acerola (*Malpighia glabra* L.) (JAYANI, 2005).

Jayani (2005) descreveu em seu trabalho algumas propriedades das pectinesterases e seu modo de ação que dependerá da origem da enzima. A PE fúngica age através de um mecanismo de multicadeia, removendo os grupos metílicos de forma randômica.

No entanto a PE produzida por vegetais tende a agir tanto na extremidade não-redutora quanto no grupo carboxila livre e prossegue ao longo da molécula por um mecanismo de cadeia simples.

A atividade da PE é maior na pectina com teor de metoxilação entre 65-75%, desde que a enzima tenha ação no grupo metoxila adjacente ao grupo carboxila. A ação da PE na viscosidade tem um efeito muito pequeno em soluções sem a presença de íons divalentes.

A faixa de pH de atividade da pectinesterase pode variar entre 4,0 e 8,0. As PE de origem fúngica têm uma faixa ótima de pH menor que a observada para a PE de origem bacteriana. A faixa ótima de temperatura para o máximo de atividade da maioria das pectinesterases está entre 40 e 50° C.

É fundamental conhecer os parâmetros como temperatura e pH ótimos da enzima, para proteger e melhorar a firmeza e textura de várias frutas processadas (CASTALDO et al., 1989, apud FAYYAZ et al., 1995).

2.7.2 Efeito indesejável da ação da pectinesterase em suco de frutas cítricas

Nas frutas cítricas, as matérias pécticas estão entre as mais abundantes sendo encontradas, sobretudo no albedo e flavedo, mas também nos tecidos da polpa e do suco (INGALLINERA et al., 2005).

Na produção de sucos a presença de enzimas pectinolíticas desempenha um papel de notável importância na sua qualidade comercial, pois as pectinases catalisam a degradação da pectina nas paredes de células vegetais (INGALLINERA et al., 2005).

Particularmente, a pectinesterase ou pectinametilesterase (PME) é a enzima responsável pela hidrólise da pectina presente nos sucos de frutas cítricas, provocando a mudança das características do suco *in natura* através da gelificação da pectina no suco (BASAK; RAMASWAMY, 1996).

Esta reação ocorre naturalmente em citros e é catalizada por várias isoenzimas. VERSTEEG et al. (1980) descreveu a existência de três isoenzimas nos citros, uma com maior massa molecular e estabilidade térmica. Collet et al. (2005) relataram em seu trabalho que duas destas enzimas estão localizados no albedo e outra no flavedo e que a isoenzima mais resistente ao calor, em trabalho de inativação térmica realizado a 70°C por 5 minutos, está localizada no albedo e nos sacos membranares onde se encontra o suco e por isso seria impossível evitar a sua presença no suco *in natura*.

2.7.3 Efeito do processamento térmico na atividade da enzima pectinesterase

Segundo Rouse e Atkins (1952), em estudo realizado sobre a inativação térmica da pectinesterase em suco de fruta cítrica, verificou-se a inativação completa da enzima, quando o suco de laranja da espécie “pineapple” com 5% de polpa e pH = 4,1, foi submetido a pasteurização térmica a 96°C/3s, 93,5°C/5s, 90,5°C/15s e 88°C/120s.

Os sucos com 10% de polpa e pH = 4,1 submetidos as mesmas condições de temperaturas, no respectivos tempos de 10, 30, 60 e 120s, também apresentaram a inativação completa da enzima pectinesterase. Foi verificado ainda neste estudo que a pasteurização realizada a 85°C/120s inativou 98,5% da enzima no suco com 5% de polpa e 97,6% no suco com 10% de polpa.

Rouse e Atkins (1952) também demonstraram que no suco da laranja *Hamlin* para a inativação completa da enzima seria necessário um tempo de 48s e temperatura variando de acordo com o pH do suco, sendo 93,5°C para pH = 3,2 e 99°C para pH = 3,8 ou 4,2.

Rothschild et al. (1975) pesquisando as condições de pasteurização do suco cítrico, observou que a inativação total da atividade enzimática pode ser obtida com um tratamento térmico à temperatura de 85°C/45s e relatou que uma atividade da pectinesterase abaixo de 1×10^4 PEU/g amostra implica na inativação de 100% da enzima.

Eagerman e Rouse (1976) observaram que o tempo de 60 segundos associado às temperaturas de 87,5°C e 90°C foi suficiente para a redução da atividade da enzima pectinesterase, obtendo-se a redução de dois ciclos logarítmicos e desta forma atingindo a estabilidade comercial.

Versteeg et al. (1980) determinaram que o tratamento térmico realizado a 90°C/48s realizado no suco de laranja é suficiente para a redução de 99% da atividade da pectinesterase de maior massa molecular e maior estabilidade térmica.

Wicker e Temalli (1988) observaram no estudo realizado sobre a inativação térmica da pectinesterase na polpa do suco de laranja uma redução de 96% na atividade da enzima nas condições de 80°C/19s. Os autores relataram neste estudo que as condições industriais utilizadas no suco de laranja comercial eram de 101°C/33s.

Segundo Fellers e Carter (1993), em estudo realizado sobre os efeitos do processamento térmico do suco de laranja refrigerado, um processamento realizado a 82°C/2s resultou na redução de 90% da atividade inicial da enzima pectinesterase. Os autores sugeriram o binômio 91°C/1s como tratamento mínimo para redução de microrganismos e redução de 97% da atividade da enzima pectinesterase.

Kim et al. (1999), observou a redução de 90% da atividade da enzima pectinesterase quando o suco de laranja foi submetido à pasteurização térmica através de um trocador de calor de placas, realizada nos binômios 80°C/33,27s, 85°C/26,08s e 90°C/17,85s.

Collet et al. (2005) estudaram a cinética da inativação térmica da pectinesterase durante a pasteurização contínua do suco de laranja realizada nas temperaturas de 82,5°C, 85°C, 87,5°C e nos respectivos tempos de 11,1s, 12,3s, 13,9s, 15,8s, 18,4s, 35,1s, 43,9s, 50,1s, 58,5s, para cada temperatura utilizada. Os autores observaram através de um modelo cinético de 1ª ordem que o aumento do tempo do processamento térmico não contribui de forma significativa para a redução da atividade da enzima pectinesterase.

Ingallinera et al. (2005) reportou, em estudo sobre os efeitos do tratamento térmico na determinação da atividade da enzima pectinesterase em suco de laranjas avermelhadas, que a atividade da enzima encontrada na polpa do suco foi relativamente maior comparada à encontrada no suco. Além disso, os autores observaram que a condição de temperatura utilizada na pasteurização (70 - 85±0,5°C) não foi suficiente para inativar toda atividade da enzima presente no suco das frutas estudadas. Os autores afirmaram ainda a necessidade de se utilizar outras condições de temperatura para inativar 100% à atividade desta enzima.

Segundo Sentandreu (2005), em estudo realizado para avaliar os efeitos do tratamento térmico na atividade da pectinametilesterase do suco de laranja e tangerina refrigeradas nos processamentos realizados a 90°C/20s e 95°C/20s a atividade enzimática da pectinesterase foi 100% inativada.

2.8 Compostos Bioativos com Propriedades Antioxidantes

O conteúdo dos compostos bioativos (vitamina C, carotenóides e compostos fenólicos) presente nas frutas cítricas pode ser afetado pela variedade, condição climática ou geográfica da produção (temperatura, luminosidade, irrigação, nutrientes no solo), estágio de maturação, colheita e pós-colheita, processamento e estocagem (CANO et al., 2001; XU et al., 2008).

Há evidências de que os vegetais protegem o organismo humano contra doenças crônicas dos sistemas cardíacos, cérebro-vascular, doenças oculares, doenças neurológicas e certos tipos de câncer. Tais potencialidades são atribuídas às propriedades antioxidantes desses constituintes. Nas frutas cítricas, os principais compostos são: carotenóides (β -criptoxantina), flavonóides (narirutina, hesperidina, naringina e neohesperidina), ácido ascórbico (vitamina C), ácidos fenólicos dentre outros (Meléndez-Martínez et al., 2007; Xu et al., 2008).

Dessa forma, os compostos com potencial antioxidante, naturalmente presentes nos alimentos, têm despertado interesse dos consumidores devido aos efeitos de prevenção de doenças e propriedades biológicas importantes à saúde humana.

2.9 Carotenóides

Carotenóides são importantes compostos naturais, extensamente distribuídos na natureza. Esses compostos possuem uma estrutura básica com quarenta átomos de carbono (C40), sendo também denominados como tetraterpenóides. Possuem esqueletos que podem ser simétricos ou não e são formados por oito unidades de isopreno (C5). Além disso, uma importante característica é a presença de um sistema de duplas ligações em extensa conjugação (cromóforo *polieno*). Esta característica estrutural lhes permite absorver luz na região visível do espectro eletromagnético, conferindo-lhes diferentes colorações como amarela, laranja ou vermelha. As ligações duplas conjugadas conferem aos carotenóides a sua forma, reatividade química e propriedades biológicas (ROCK, 1997; LEE et al., 2001). Contudo, essa característica estrutural também é responsável por sua instabilidade em relação à exposição a luz, altas temperaturas, presença de oxigênio, atividade de água, acidez, presença de metais oxidantes, tipo de processamento, tipo de material da embalagem, condições de armazenagem, causando a isomerização e oxidação desses compostos (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; OLIVER; PALOU, 2000; SUBAGIO; MORITA, 2001).

A alta susceptibilidade à oxidação habilita os carotenóides a atuarem como antioxidantes nos sistemas biológicos, e a sua característica estrutural possibilita a sua incorporação dentro das membranas biológicas, influenciando na sua interação com espécies reativas de oxigênio: radicais hidroxí, peróxi, etc. A efetividade dos carotenóides como antioxidantes também depende da sua interação com outros coantioxidantes como, as vitaminas E e C (YOUNG; LOWE, 2001).

Devido à sua característica estrutural, diferentes modificações podem ocorrer: ciclização em uma ou ambas as extremidades, adição de grupos laterais, hidrogenação e desidrogenação ou rearranjo; resultando numa variedade elevada de estruturas. De fato, mais de 700 carotenóides foram descritos e identificados na natureza (DUGO et al., 2008).

Usualmente, os carotenóides encontram-se divididos em dois grupos: carotenóides hidrogenados, sendo conhecidos como carotenos (β -caroteno e licopeno) e carotenóides oxigenados, conhecidos como xantofilas (β -criptoxantina e luteína). Podem também ser encontrados na sua forma livre ou esterificados com ácidos graxos, apresentando-se mais estáveis. Na natureza, os carotenóides são encontrados preferencialmente na sua forma mais estável *trans*, porém pequenas quantidades do seu isômero *cis* podem ocorrer (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA, 2004).

A tangerina murcote apresenta em sua composição os seguintes carotenóides: β -criptoxantina, β -caroteno, zeaxantina e luteína (Figura 4). A β -criptoxantina frequentemente é o carotenóide encontrado em maior concentração na tangerina murcote, seguida do β -caroteno, zeaxantina e luteína (WANG et al., 2007).

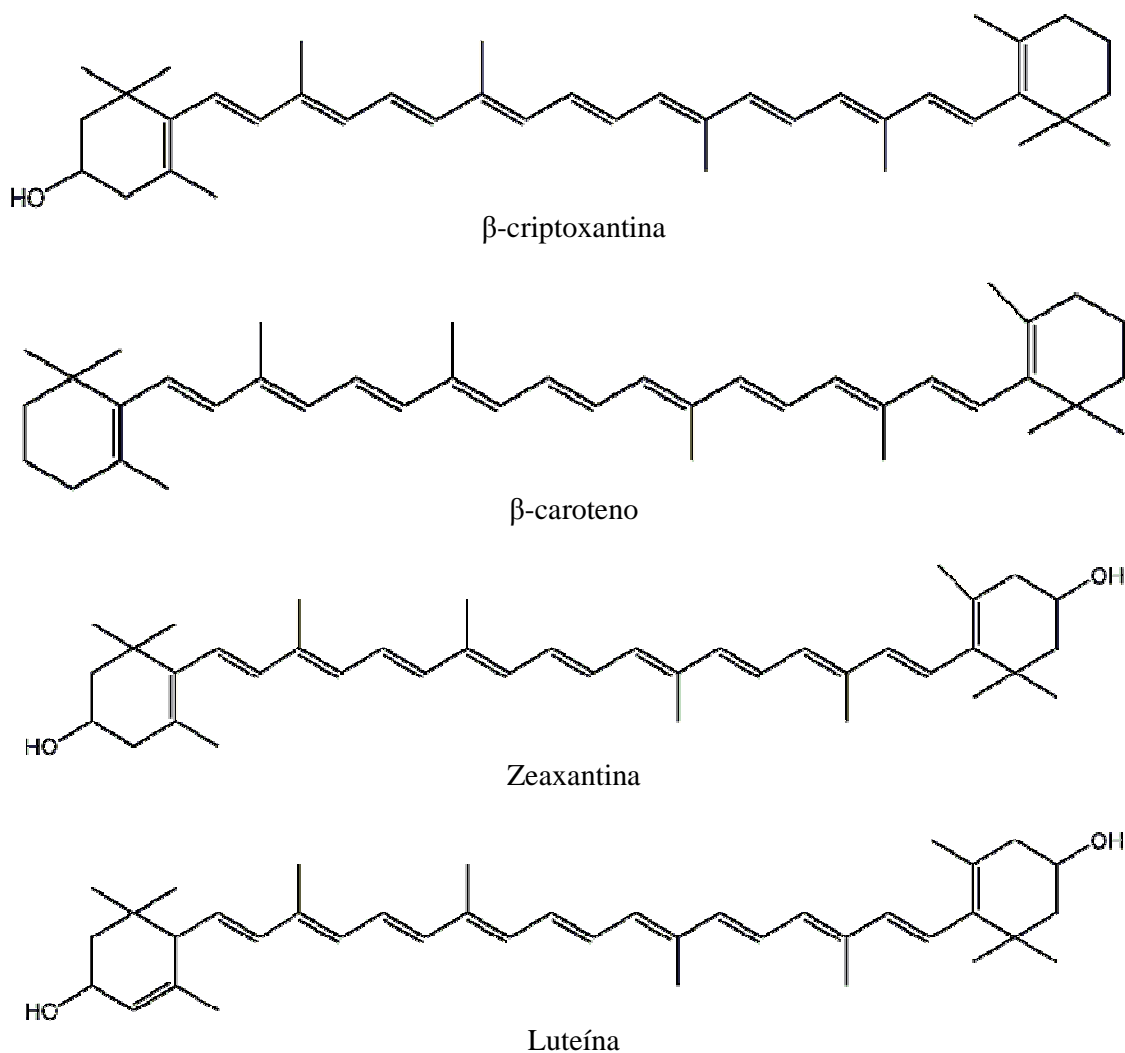


Figura 4. Estrutura química dos carotenóides identificados na tangerina murcote (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001)

2.9.1 Importância dos carotenóides para a saúde humana

Atualmente é aceito que uma dieta rica em frutas e hortaliças pode exercer um papel importante na prevenção de diversas doenças degenerativas como as doenças cardiovasculares e o câncer (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2007).

O interesse pelos carotenóides é crescente, não somente pela sua atividade como pró- vitamina A, mas também devido as suas potenciais propriedades benéficas a saúde como atividade antioxidante (LEACH et al., 1998; OLSON, 1996), capacidade de impedir as doenças cardiovasculares (DUGO et al., 2008), degeneração macular (SNODDERLY, 1995) e prevenção do câncer (OMANI; ALUKO, 2005). Por estas razões, os carotenóides atualmente estão recebendo muitas atenções, sendo as espécies do gênero *Citrus* consideradas como uma das principais fontes naturais destes compostos e dentre estas a tangerina murcote (GOODNER et al., 2001).

Os carotenóides β -caroteno, alfa-caroteno, β -criptoxantina, luteína e licopeno são os principais carotenóides encontrados nos alimentos e os mais comumente encontrados no plasma humano. Estes carotenóides junto com a zeaxantina têm sido destacados por apresentarem efeitos promotores benéficos à saúde humana (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA, 2004).

2.9.2 Efeito do processamento térmico na composição dos carotenóides

Processamento térmico é o método de conservação mais popular e convencionalmente utilizado para a inativação microbiana, enzimática e para aumentar a vida-de-prateleira dos alimentos (HSU, 2008). Entretanto o processamento térmico de acordo com a sua intensidade pode provocar perdas ou alterações na composição dos carotenóides presentes nos alimentos como, por exemplo, a isomerização dos carotenóides *trans* para isômeros *cis*.

Em qualquer processamento térmico é observada uma diminuição na retenção dos carotenóides à medida que se prolonga o tempo do processo. A maior retenção ocorre quando se possibilita uma redução na temperatura e no tempo do processamento térmico. Entretanto processamentos térmicos realizados em elevadas temperaturas num pequeno espaço de tempo possibilitam maior retenção no conteúdo dos carotenóides (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA, 2004).

Ogunlesi e Lee (1979) relataram, em estudo realizado com cenouras em conservas, um aumento na concentração dos isômeros *cis* e uma perda de 15% no conteúdo dos carotenóides totais presentes na cenoura fresca.

Meléndez-Martínez (2007) relataram que no processamento industrial do suco de laranja existem controvérsias sobre os efeitos da pasteurização no conteúdo dos carotenóides pró-vitamina A. O estudo de Lee e Coates (2003) demonstrou um significativo decréscimo na quantidade de carotenóides após a pasteurização, realizada a 90°C/30s. Neste estudo, os autores observaram uma relevante perda de violoxantina e anteroxantina, porém o conteúdo dos carotenóides pró-vitamina A não sofreram grandes alterações. Entretanto, perdas de 36% dos carotenóides pró-vitamina A foram observadas no suco de laranja pasteurizado a 80°C/120s, em estudo realizado para avaliar a quantificação dos isômeros *cis/trans* dos carotenóides provitamina A em suco *in natura* e processado de vegetais (LESSIN et al., 1997).

Gama e Sylos (2007) observaram que a composição dos carotenóides foi similar para os sucos de laranja *in natura*, pasteurizado e concentrado e todos os sucos apresentaram em maior concentração os carotenóides luteína, β -criptoxantina e zeaxantina. No mesmo estudo observou-se uma perda, para o suco de laranja pasteurizado, de 14% do conteúdo dos carotenóides totais, 38% de violaxantina, 20% de luteína, 14% de ζ -caroteno, 13% de α -caroteno, 11% de β -caroteno, 90% de zeaxantina e um aumento de 5% no teor de β -criptoxantina.

2.10 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos correspondem a um grupo formado por moléculas muito distintas entre si que estão divididas, em função da estrutura química, em duas classes, flavonóides e não-flavonóides. Estas duas classes dividem-se em várias subclasses em função do padrão de substituição e das estruturas químicas.

Os compostos fenólicos constituem um amplo e complexo grupo de metabólicos secundários, são produtos secundários do metabolismo vegetal, com mais de 8000 estruturas conhecidas (BRAVO, 1998; MARTINEZ-VALVERDE et al., 2000; MELO et al., 2008).

Atualmente, este diversificado grupo de compostos encontra-se dividido em várias classes, segundo o esqueleto carbônico, dentre os quais se destacam os flavonóides e os ácidos fenólicos (MELO et al., 2008). Estes compostos apresentam algumas funcionalidades, podendo agir como fitoalexinas, como atrativo para polinização, por contribuírem para a pigmentação do vegetal, como antioxidantes e, similarmente ao sistema imunológico humano, protegendo a planta de raios ultravioleta e de patógenos, dentre outros. Nos alimentos são os principais compostos responsáveis pelas características sensoriais tais como adstringência e amargor, além da estabilidade oxidativa dos produtos derivados de vegetais. Por muito tempo, esses compostos foram associados negativamente à qualidade de alimentos pela ação antinutricional como, por exemplo, dos taninos, que complexam proteínas, diminuindo o valor nutricional e em alguns casos inibindo a atividade de enzimas como tripsina e lipases (SHAHIDI; NACZK, 1995). No entanto, vários estudos recentes têm demonstrado seus efeitos farmacológicos (bactericida, antiviral, antialérgico, antitrombótico, antiinflamatório, anticarcinogênico, hepatoprotetor, vasodilatador), despertando grande interesse, principalmente por sua alta prevalência vegetais (CHEYNIER, 2005; NACZK; SHAHIDI, 2004; SOBRATTEE et al., 2005).

2.10.1 Caracterização química dos compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são derivados biosintéticos da fenilalanina e tirosina, produzidos em células vegetais. No entanto, não se apresentam uniformemente distribuídos no vegetal, ocorrendo variações das classes e subclasses destes compostos, bem como das suas concentrações, em função da localização no tecido vegetal.

A fenilalanina amônia-liase (PAL) é a enzima chave na regulação da via metabólica de fenilpropanóides, conforme ilustra a Figura 5, convertendo a L-fenilalanina em ácido *trans*-cinâmico e iniciando a biossíntese dos fenilpropanóides. Fatores genéticos irão determinar quais classes e subclasses desses compostos serão sintetizadas (NACZK; SHAHIDI, 2004).

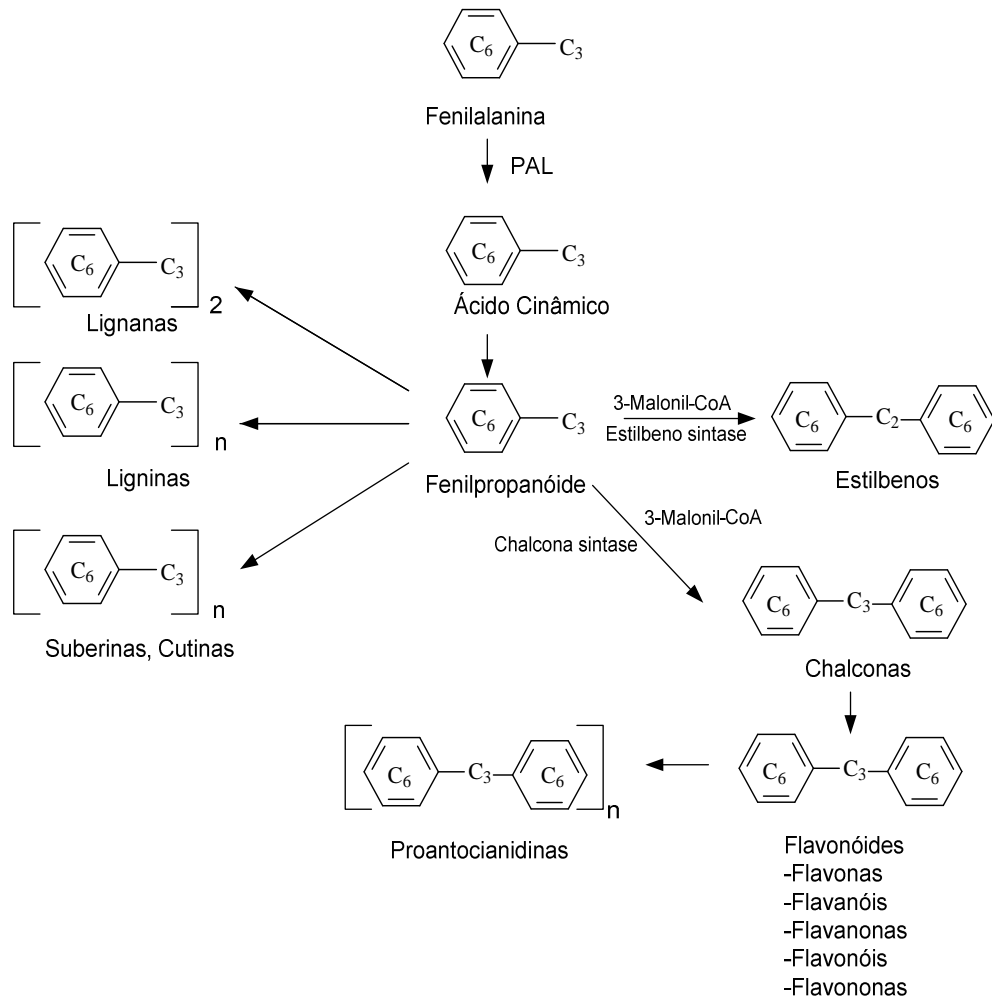


Figura 5. Rotas de biossíntese dos compostos fenólicos em plantas

Os teores e o perfil dos compostos fenólicos em plantas podem ainda variar em função da espécie, variedade, estresse ambiental, estádios de crescimento e maturação.

A classe dos não-flavonóides não apresenta uma estrutura básica em comum e, portanto, é uma classe muito heterogênea, conforme ilustra a Figura 6, sendo composta por ácidos fenólicos (ácido benzóico, ácido hidroxicinâmico e seus derivados), ligninas, lignanas, suberinas, estilbenos e taninos hidrolisáveis (CHEYNIER, 2005).

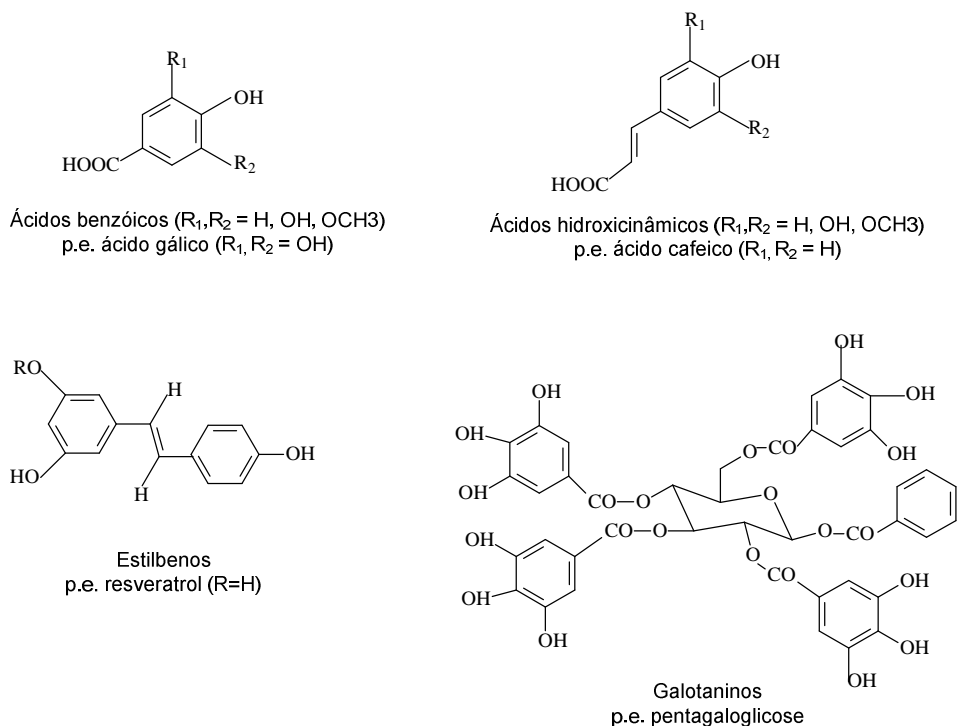


Figura 6. Principais classes de compostos não-flavonoídicos

Os flavonóides caracterizam-se por apresentar uma estrutura química descrita como C₆-C₃-C₆, composta por dois anéis aromáticos ligados por três carbonos e um átomo de oxigênio formando um heterociclo oxigenado denominado de núcleo flavano (Figura 2.3). Os ácidos fenólicos são classificados como (MELO; GUERRA, 2002; BURNS et al., 2001):

- derivados das estruturas químicas C₆-C₁ específicas dos ácidos hidroxibenzoico, gálico e elágico;
- derivados das estruturas químicas C₆-C₃ específicos dos ácidos caféico e *p*-cumárico hidroxi;
- derivados das estruturas químicas C₆-C₂-C₆ específicos do *trans* resveratrol, *cis*-resveratrol e *trans*-resveratrol-glucosídeo.

O grupo dos flavanóides é também conhecido como polifenóis e geralmente ocorrem nos frutos na forma de glucosídeos, sendo uma das substâncias responsáveis pela atribuição do perfil sensorial de frutas, atribuindo-lhes um fator característico (AHERNE; O'BRIEN, 2002; SLUIS et al., 2001).

Os ácidos fenólicos estão reunidos em dois grupos: derivados do ácido hidroxicinâmico e derivados do ácido hidroxibenzoico (Figura 6). Os derivados do ácido hidroxicinâmico são compostos fenólicos de ocorrência natural que possuem um anel aromático com uma cadeia carbônica, constituída por três carbonos ligada ao anel. Os ácidos *p*-cumárico, ferúlico, caféico e sináptico são as hidroxicinâmicos mais comuns na natureza. Estes ácidos existem nas plantas, usualmente na forma de ésteres, a exemplo do ácido clorogênico; são encontrados na forma de glicosídeos ou ligados a proteínas e a outros polímeros da parede celular e, raramente, como ácidos livres. Isômeros do ácido clorogênico e do ácido caféico são descritos como antioxidantes (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

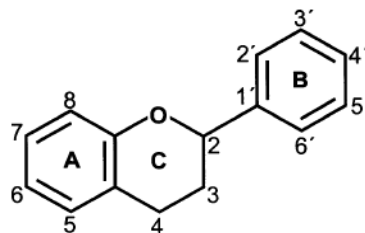


Figura 7. Estrutura química do núcleo flavano

2.10.2 Compostos fenólicos em frutas cítricas

Nos últimos anos, uma maior atenção tem sido dada aos compostos fenólicos presentes nas frutas cítricas. Recentes publicações sugerem que estes compostos desempenham um importante papel na capacidade antioxidante das frutas cítricas (GORINSTEIN et al., 2004; RAPISARDA et al., 1999; WANG et al., 1996; XU et al., 2008).

Dietas à base de compostos fenólicos presentes nas frutas cítricas incluem os compostos conhecidos como flavonóides e ácidos fenólicos (BALASUNDRAM et al., 2006, XU et al., 2008). Em geral, os flavonóides dos citros são compostos em grande parte por flavanóides glicosilados: narirutina, hesperidina, naringina e neohesperidina (ROUSEFF et al., 1987; XU et al., 2008). Por outro lado, as frutas cítricas apresentam largamente ácidos fenólicos que ocorrem frequentemente como hidroxicinâmicos, como o ácido cafeico, *p*-cumárico, ferúlico e sinápico (ROBBINS, 2003).

2.11 Vitamina C (ácido ascórbico)

A vitamina C é conhecida como ácido ascórbico (AA) na forma reduzida e ácido dehidroascórbico (DHAA) na forma oxidada. Conforme a Figura 8, o ácido ascórbico (I) é uma cetolactona de seis carbonos que se oxida facilmente e de modo reversível a ácido deidroascórbico (II), que apresenta cerca de 60 % das propriedades da vitamina C.

A atividade biológica da vitamina C se perde quando o ácido deidroascórbico transforma-se pela quebra irreversível do anel lactônico em ácido 2,3-dicetogulônico (III) (ROJAS; GERSCHENSON, 1997; UDDIN et al., 2002; GIANNAKOUREOU et al., 2003).

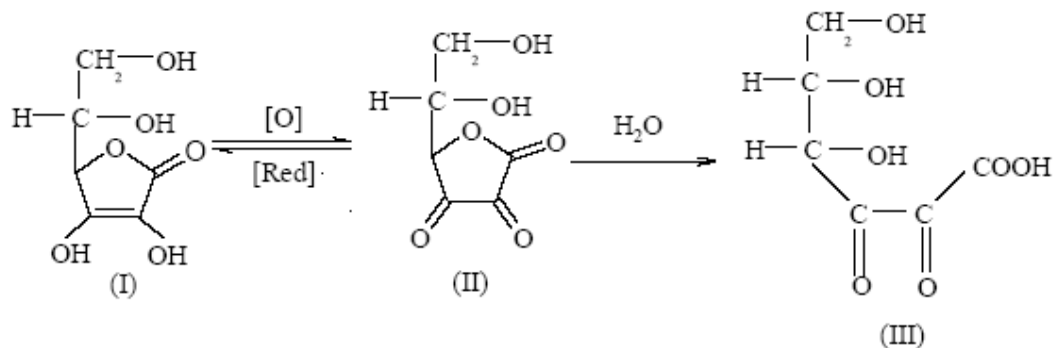


Figura 8. Mecanismo de conversão do ácido L-ascórbico em ácido deidroascórbico

O ácido ascórbico é um dos mais importantes ácidos orgânicos presentes nas frutas e nos vegetais, atuando diretamente no valor nutricional destes alimentos (ELEZ-MARTÍNEZ; MARTÍN-BELLOSO, 2007). Porém é necessário avaliar os efeitos do processamento térmico

sobre os teores de vitamina C devido à sua instabilidade térmica (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2007).

Segundo Naidu (2003) e Klimczak et al. (2007), com base em estudos bioquímicos, clínicos e epidemiológicos, a recomendação de ingestão diária para o ácido ascórbico é de 100-120mg por dia, para alcançar a saturação celular e reduzir os riscos das doenças cardíacas, derrame e câncer em indivíduos saudáveis. O teor de vitamina C no suco de laranja, variando de 150 a 450mg/L, numa garrafa de 200mL de suco pode fornecer aproximadamente de 30 a 80% da recomendação diária a ser ingerida de vitamina C (KLIMCZAK et al. 2007).

Segundo o "Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais" da ANVISA, a recomendação de ingestão diária de vitamina C para uma pessoa adulta é de 45mg (BRASIL, 2005).

O ácido ascórbico é necessário na produção e manutenção do colágeno, atuando como antiescorbútico, participa na formação da hidroxiprolina, reduz o ferro Fe^{3+} a Fe^{2+} no trato intestinal, facilita a absorção de zinco e cobre, auxilia na eliminação de chumbo, mercúrio, vanádio, cádmio e níquel, aumenta a resistência orgânica às infecções, protegendo as células e tecidos do ataque de patógenos, e também, pode inibir o desenvolvimento de doenças cardíacas e de certos tipos de cânceres (MILANESIO et al., 1997).

Segundo Elez-Martínez e Martín-Belloso (2007) as propriedades antioxidantes da vitamina C têm sido estudadas e podem prevenir a indução de danos ao DNA causados pelos radicais livres, eliminando os oxidantes que podem levar ao desenvolvimento da catarata (MARES-PERLMAN, 1997), superando disfunção das células endoteliais e diminuição do LDL. A vitamina C também contribui para uma vasculatura saudável através da regulação da síntese do colágeno, produção de prostaciclina, e manutenção dos níveis de óxido nítrico (NESS et al., 1996).

Além disso, vários estudos têm mostrado que a vitamina C desempenha um papel importante na saúde do ser humano, aumentando a ação do sistema imunológico (GRIMBLE, 1997), e diminuindo o risco de aparecimento da doença de Alzheimer (ENGELHART et al., 2002).

Todas as ações fisiológicas e bioquímicas da vitamina C devem-se a ação doadora de elétrons provenientes da dupla ligação entre o segundo e terceiro átomo de carbono, o que lhe confere excelente atividade antioxidante. Devido à propriedade antioxidante, a vitamina C é utilizada industrialmente como agente conservador de alimentos prevenindo a deterioração pela auto-oxidação dos ácidos graxos insaturados (GAMA, 2008).

Nos sistemas biológicos, o ácido ascórbico atua ainda em sinergismo com os carotenóides, flavonóides e vitamina E na promoção de uma barreira efetiva contra a oxidação celular (YOUNG; LOWE, 2001; MIEAN; MOHAMED, 2001).

As principais fontes de vitamina C para os seres humanos são as frutas e os vegetais onde o ácido ascórbico encontra-se principalmente na forma livre e/ou ligado às proteínas. Segundo Meléndez-Martínez et al. (2007), em estudo realizado para avaliar o conteúdo de vitamina C de diferentes tipos de suco de laranja comercializados na Espanha, relatou que o suco de laranja é provavelmente o mais aceito e consumido globalmente, sendo uma excelente fonte de vitamina C.

O conteúdo de ácido ascórbico presente nas frutas e nos vegetais serve como índice de maturação e controle de qualidade dessas matrizes (ÖZGUR; SUNGUR, 1995). O teor de ácido ascórbico é influenciado pelas condições ambientais da produção, em especial, pela intensidade luminosa. Uma adubação rica em nitrogênio (N) solúvel pode causar decréscimo no teor de vitamina C por razões indiretas uma vez que o suprimento de N aumenta a densidade das folhas que por sua vez diminuem a incidência luminosa sobre os frutos (DUMAS et al., 2003).

Como o ácido ascórbico é uma vitamina hidrossolúvel de fácil degradação pelo calor, por cobre e pH alcalino, perdas significativas desta vitamina podem ocorrer durante o preparo e o cozimento dos alimentos (GAHLER et al., 2003; SAHLIN et al., 2004). Tais perdas são altamente dependentes da temperatura e do tempo de aquecimento utilizados no processamento (GAHLER et al. 2003; CHANG et al., 2006; TOOR ; SAVAGE, 2006). Além disso, a redução da vitamina C no suco *in natura* é resultante das reações enzimáticas oxidativas atribuídas exclusivamente à peroxidase e à ascorbato oxidase (ELEZ-MARTÍNEZ; MARTÍN-BELLOSO, 2007; DAVEY et al., 2000; LEE ; COATES, 1999).

Segundo Sánchez-Moreno et al. (2003) foi observado, na avaliação do conteúdo da vitamina C em suco de laranjas comerciais, os valores de 31-56mg/100mL para o suco levemente pasteurizado, 64mg/100mL para o suco pasteurizado e 49mg/100mL para o suco congelado.

Elez-Martínez e Martín-Belloso (2007) observaram, em estudo realizado para avaliar as condições de processamento térmico e de campos elétricos pulsantes nos teores da vitamina C, que a pasteurização realizada a 90°C/60s proporcionou a retenção de 82,4% da vitamina C, ou seja, uma perda 17,6% somente.

2.12 Capacidade Antioxidante

Atualmente, devido a uma maior preocupação com a saúde e foco na prevenção de doenças, tem-se observado um aumento no consumo de frutas em todo o mundo, pois várias evidências científicas apontam os efeitos benéficos de dietas ricas em frutas, hortaliças e vegetais, por apresentarem em sua composição vários compostos com capacidade antioxidante como vitaminas A e C, carotenóides e compostos fenólicos. Muitos autores têm demonstrado correlação entre a concentração destes compostos e a capacidade antioxidante (MANACH et al., 2004; ALVES et al., 2007; ZULETA et al., 2008).

A atividade antioxidante de alguns compostos presentes nos alimentos tem despertado interesse pelo seu potencial efeito na prevenção do estresse oxidativo, causa primária de muitas doenças crônicas, provocando danos celulares que podem promover disfunções fisiológicas e morte celular.

O estresse oxidativo é resultado do desequilíbrio entre as espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio (RNS) e o sistema de defesa antioxidante presente no organismo. As espécies reativas de oxigênio e nitrogênio podem ser geradas durante a irradiação por raios ultravioleta, raios X e gama, e por reações catalisadas por metais. Podem ser também geradas no organismo por neutrófilos e macrófagos durante o processo inflamatório, por exposição a herbicidas, xenobióticos, toxinas e principalmente durante o metabolismo aeróbico na mitocôndria (cadeia transportadora de elétrons).

Antioxidantes enzimáticos como superóxido desmutase, catalase e glutatión peroxidase, juntamente com antioxidantes não enzimáticos como as vitaminas C e E, carotenóides, flavonóides e antioxidantes tíóis, formam o sistema de defesa antioxidante (VALKO et al., 2006; SCANDALIOS, 2005).

As definições de antioxidantes diferem em função da natureza do sistema a ser protegido. Para Becker et al. (2004), antioxidantes são “substâncias que em pequenas quantidades são capazes de prevenir ou retardar a oxidação de materiais facilmente oxidáveis”. Porém, no âmbito bioquímico-médico citado por Huang et al. (2005), “antioxidantes são enzimas ou compostos orgânicos, como vitamina E ou β -caroteno, que são capazes de evitar os efeitos danosos da oxidação em tecidos animais”.

Os compostos fenólicos têm despertado grande interesse devido ao seu alto teor nos vegetais e elevado poder antioxidante, capaz de remover radicais livres, quelar íons metálicos com atividade redox, modular a expressão gênica e interagir com mecanismos de sinalização

celular; sendo atribuída grande parte de sua bioatividade a estas características. Porém os mecanismos de absorção, e metabolismo e teores presentes na dieta podem afetar a eficiência da ação antioxidante e estes aspectos não estão totalmente esclarecidos (RHODES, 1996; SOOBRAATTEE et al., 2005).

Devido ao grande interesse em quantificar a capacidade antioxidante de diversos compostos, várias metodologias *in vitro* foram propostas e estão sendo estudadas para avaliar a capacidade antioxidante total dos alimentos, com diferenças no grau de complexidade, sensibilidade, mecanismos e espécies reativas envolvidas. Além disso, ainda não há consenso quanto à validade e relevância destes métodos em sistemas biológicos (ARNAO, 2000; HUANG et al., 2005; ZULUETA et al., 2008).

Os métodos químicos para determinação da atividade antioxidante estão divididos quanto à natureza da reação envolvida: métodos baseados na transferência de elétrons (ET) e métodos baseados na transferência de átomos de hidrogênio (TAH) (HUANG et al., 2005).

Dentre os métodos baseados na transferência de átomos de hidrogênio, tem-se o ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), o TRAP (*Total Radical Trapping Antioxidant Parameter*); o IOU (*Inhibited Oxygen Uptake*) e a inibição da oxidação do ácido linoléico e da lipoproteína de baixa densidade (LDL). A maioria destas metodologias baseia-se na reação competitiva entre o antioxidante e o substrato para formação do radical por decomposição de compostos azo, permitindo o acompanhamento da reação por ultravioleta ou por fluorescência (ORAC) (ARNAO, 2000; BECKER et al., 2004; HUANG et al., 2005).

A metodologia de quantificação de fenólicos totais pelo reagente de Folin-Ciocalteu, descrita por Singleton e Rossi (1965) e modificado por Georgé et al. (2005), também é utilizada para quantificar a atividade antioxidante e seu mecanismo de ação envolve a transferência de elétrons como no caso do ABTS expresso em TEAC (*Trolox® Equivalence Antioxidant Capacity*), FRAP (*Ferric Ion Reducing Antioxidant Parameter*); DPPH (*diphenyl-1-picrylhydrazyl*) e CUPRAC (*Copper Reduction Assay*) (TABART et al., 2009). Outras metodologias não incluídas dentro destes dois grupos foram desenvolvidas, como a TOSC (Total Oxidant Scavenging Capacity Assay), a análise da quimioluminescência e a análise da eletroquimioluminescência (TABART et al., 2009).

As metodologias que envolvem a transferência de elétrons baseiam-se na redução do substrato por ação dos antioxidantes presentes na amostra que apresentam comportamento espectral distinto no estado oxidado e reduzido (ARNAO, 2000; BECKER et al., 2004; HUANG et al., 2005).

A metodologia de ABTS, cujo resultado é expresso em TEAC, proposta por Re et al. (1999), utiliza o ABTS [ácido 2,2' azinobis-3-(etilbenzotiazolina-6-sulfônico)] como substrato e emprega o persulfato de potássio para formar o radical $ABTS^{+•}$.

Em função do material a ser analisado, este radical pode ter como meio de extinção uma solução tampão fosfato pH 7,4 ou álcool etílico 95%. Esta metodologia baseia-se no comportamento espectral do ABTS, com absorvância máxima de luz na região do visível (645 nm, 734nm e 815nm) somente na forma de radical ($ABTS^{+•}$) apresentando uma coloração verde-azulada. Portanto, a presença de substâncias com atividade antioxidante na amostra irá promover uma descoloração do radical $ABTS^{+•}$ e subsequente redução na absorvância (Figura 9), cuja intensidade será correlacionada à mesma intensidade produzida pelo padrão analítico Trolox® (ácido 6-hidróxi-2-5-7-8-tetrametilcromo2-carboxílico), um análogo hidrossolúvel da vitamina E (BECKER et al., 2004; ZULUETA et al., 2008).

A atividade antioxidante da amostra é dada em μM equivalente de Trolox em grama ou 100g de amostra.

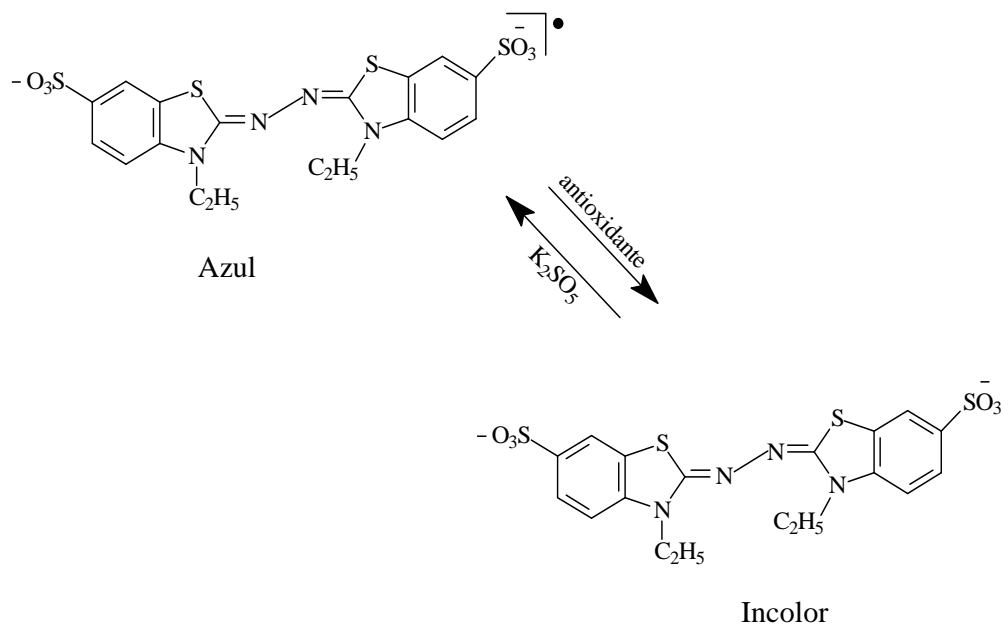


Figura 9. Comportamento espectral do ABTS

3 MATERIAL E MÉTODOS

O recebimento, armazenamento e o processamento das tangerinas foram realizados na Planta Piloto de Operações Unitárias II da Embrapa Agroindústria de Alimentos.

As análises de caracterização química do produto (com exceção das análises cromatográficas e microbiológicas) foram efetuadas no Laboratório de Apoio das Plantas Piloto de Operações Unitárias I e II da Embrapa Agroindústria de Alimentos.

As análises cromatográficas foram realizadas no Laboratório de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE da Embrapa Agroindústria de Alimentos; e as análises microbiológicas foram realizadas, respectivamente, no Laboratório de Microbiologia da Embrapa Agroindústria de Alimentos.

As análises enzimáticas foram realizadas no laboratório de biotecnologia enzimática localizado no centro de tecnologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro

3.1 Matéria-prima

A tangerina murcote (*Citrus reticulata* Blanco x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck) utilizada neste estudo (Figura 10) foi adquirida na Central de Abastecimento do Município do Rio de Janeiro (CEASA-RJ) no período de sua safra anual, compreendido entre setembro a novembro de 2008. Após a recepção e chegada da matéria-prima, as tangerinas foram armazenadas em sistema refrigerado a 8°C e processadas em seqüência.

3.2 Preparo da Matéria-Prima e Obtenção do Suco

Os frutos foram selecionados, higienizados, pré-lavados com água corrente, lavados por imersão para redução e remoção de sujidades (matéria orgânica, fragmentos, etc.) presentes na superfície dos frutos e sanificados em solução de hipoclorito de Sódio (NaClO) a 200ppm de cloro livre com um tempo de contato mínimo de 15 minutos. Após a sanificação as tangerinas foram novamente lavadas por imersão para remoção dos resíduos de cloro.

Após a higienização os frutos foram descascados manualmente, despolpados em extrator de sucos modelo Bonina fabricado pela Itametal-Brasil (Figura 12) e o suco centrifugado em uma centrífuga de cesto modelo SIZE 2 da International Equipment Company (Figura 13) a 406g por 15 minutos.



Figura 10. Frutos selecionados da tangerina murcote

As etapas para obtenção do suco estão apresentadas na Figura 11.



Figura 11. Etapas do processamento térmico do suco da tangerina murcote



Figura 12. Extrator de sucos modelo Bonina da Itametal-Brasil



Figura 13. Centrífuga de cesto modelo SIZE 2 (International Equipament Company)

3.3 Pasteurização do suco de tangerina

Após a extração e centrifugação, o suco foi tratado termicamente em trocador de calor, constituído de uma zona quente (pré-aquecimento e aquecimento) e de uma zona fria

(resfriamento à 20°C), (Figura 14) da Armfield FT25D SSHE (Armfield, England) e envasados em embalagens de vidro transparentes em uma unidade ultralimpa (Figura 15). Em seguida, o suco foi encaminhado para as determinações analíticas realizadas em triplicata.

No planejamento experimental fatorial composto central com pontos axiais foi utilizada uma combinação 2^2 dos parâmetros tempo (20 e 40 segundos) e temperatura (90°C e 98°C). Diante deste planejamento foram realizados no total 11 processamentos, sendo sete experimentos com três repetições no ponto central e quatro experimentos nos pontos axiais.

Com base nos dados das determinações enzimáticas, químico-nutricional e microbiológica do suco de tangerina submetido a distintos binômios tempo e temperatura, foram avaliados os tratamentos térmicos aplicados ao processamento.



Figura 14. Trocador de calor da Armfield FT25D SSHE (Armfield, England)



Figura 15. Envase do suco de tangerina pasteurizado em embalagens de vidro em unidade ultralimpa

3.4 Análises

3.4.1 Determinação da acidez titulável

A determinação da acidez titulável (expressa em % de ácido cítrico equivalente) foi realizada por titulação potenciométrica, utilizando solução de NaOH 0,1M como agente titulante e titulador automático Metrohm® modelo 785 DMP Titrino, com ponto de viragem da titulação em pH 8,2 (HORWITS, 2000).

3.4.2 Determinação do pH

O pH foi determinado em pHmetro Metrohm® modelo 785 DMP Titrino com leitura direta a 25°C utilizando-se eletrodo de vidro e soluções tampões para calibração com pH 4 e pH 7, conforme Instituto Adolfo Lutz (2005).



Figura 16. Titulador e pHmetro automático da Metrohm

3.4.3 Determinação dos sólidos solúveis

A análise de sólidos solúveis foi realizada pela leitura direta em refratômetro Abbé (Bellingham Stanley) com escala expressa em °Brix a 20°C, conforme Instituto Adolfo Lutz (2005).



Figura 17. Refratômetro de Abbé

3.4.4 Determinação dos sólidos totais

A determinação dos sólidos totais foi realizada em estufa à vácuo até a obtenção do peso constante, conforme Instituto Adolfo Lutz (2005).

3.4.5 Determinação da composição dos carotenóides por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A concentração de carotenóides totais foi determinada segundo a metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (2001) e o perfil de carotenóides dos sucos *in natura* e pasteurizado foram determinadas segundo Pacheco (2009).

Os padrões analíticos utilizados na análise cromatográfica foram luteína, zeaxantina, β -criptoxantina e β -caroteno com pureza de 95,8%, 97,9%, 92,8% e 98,4%, respectivamente. Foram extraídos e purificados em coluna cromatográfica aberta empacotada com celite[®] (Tedia Company, Fairfield - USA), utilizando-se as seguintes matrizes vegetais: (1) luteína – espinafre, (2) zeaxantina - laranjinha de jardim (*Solanum pseudocapsicum*), (3) β -criptoxantina – caqui e β -caroteno – cenoura.

A faixa de trabalho da curva de calibração e a faixa de linearidade do trabalho foi definida em 0,5 a 8,0 $\mu\text{g/mL}$, apresentando coeficientes de regressão de 0,9972, 0,9973, 0,9974 e 0,9973 para a luteína, zeaxantina, β -criptoxantina e β -caroteno, respectivamente.

As amostras de suco foram maceradas com celite e extraídas com acetona (Tedia Company, Fairfield - USA) gelada e filtradas em funil de placa porosa. O extrato cetônico foi transferido para funil de separação e os carotenóides foram extraídos por partição líquido-líquido com éter de petróleo (Tedia Company, Fairfield - USA) e água ultrapura obtida em um equipamento Millipore Elix[®] 5 / Milli[®] Q A10 (Bedford, USA).

A fase aquosa foi descartada e o extrato etéreo saponificado com KOH 10% em metanol (Tedia Company, Fairfield - USA) com agitação por 16 horas à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Os carotenóides livres obtidos na saponificação foram extraídos novamente em funil de separação com éter de petróleo e água.

O extrato etéreo foi filtrado sob sulfato de sódio anidro e uma pequena alíquota foi utilizada para quantificar a concentração total de carotenóides. Nesta análise utilizou-se um espectrofotômetro UV-vis. Shimadzu[®] modelo UV-1800, com cubeta de quartzo com 1,0cm de caminho ótico e leitura em comprimento de onda de 449nm.

A análise do perfil de carotenóides foi realizada utilizando-se um sistema cromatográfico Waters Alliance[®] modelo 2695 equipado com detector de arranjo de fotodiodos Waters[®] 2996 com varredura de 350 a 600nm, coluna Waters YCM[®] Carotenoid (250 x 4,6mm, 3 μm) a 30°C, fase móvel metanol: éter metil-*tert*-butílico 80:20 (v/v) com eluição gradiente, fluxo 0,8mL/min., com padronização externa e quantificações em triplicata (Figura 18).

A metodologia descrita por Pacheco (2009) foi desenvolvida no laboratório de cromatografia líquida da Embrapa Agroindústria de Alimentos e acreditada pelo INMETRO segundo a NBR ISO/IEC 17025:2005, certificado de acreditação RBL (Rede Brasileira de Laboratórios de Ensaio) CRL 0228.



Figura 18. Cromatógrafo Waters Alliance 2695

3.4.6 Determinação dos açúcares (frutose, glicose e sacarose)

As amostras do suco de tangerina (*in natura*, centrifugado e pasteurizado) foram extraídas por diluição com H₂O em ultra-som por vinte minutos, filtradas em membrana hidrofílica estéril (0,2µm) e quantificadas por cromatografia líquida de alta eficiência com padronização externa (MACRAE, 1998).

Os padrões analíticos utilizados na análise cromatográfica foram à frutose, glicose e sacarose com pureza de 99%, 99,5% e 100% respectivamente, obtidos da Sigma-Aldrich.

Na determinação dos açúcares (sacarose, glicose e frutose) por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizou-se um cromatógrafo Waters Alliance 2695 equipado com detector de índice de refração Waters 2410, coluna BioRad Aminex[®] HPX-87C (300 x 7,8mm) à temperatura de 85°C, fase móvel 100% água, fluxo 0,6 mL/min. e volume de injeção 20µL.

3.4.7 Determinação do ácido ascórbico (vitamina C)

Para esta determinação foi adotada a metodologia desenvolvida pelo método oficial 985.33 da AOAC (2000) e modificada por Benassi e Antunes (1998), baseada na redução do indicador 2,6-diclorofenolindofenol (DCFI) pelo ácido ascórbico.

A padronização desta análise foi realizada com padrão de ácido ascórbico (ácido L-ascórbico ultra da Sigma-Aldrich). Uma massa de 0,015g deste foi transferida para um balão de 50mL e o volume nominal completado com ácido oxálico. Uma alíquota de 1mL desta solução foi colocada em erlenmeyer junto com 50mL de ácido oxálico a 2% e titulado com solução de DCFI (2,6-diclorofenolindofenol 0,01%) até coloração em róseo claro permanente.

Para determinação do teor de ácido ascórbico, 2,5mL de suco de tangerina, após homogeneização, foi transferido para um balão volumétrico de 100mL e o volume foi completado com ácido oxálico 2%. Após 15 minutos sob agitação, uma alíquota de 2 mL do extrato foi transferida para erlenmeyer contendo 50mL de ácido oxálico e titulado com solução de DCFI (2,6-diclorofenolindofenol 0,01%) até obter-se uma coloração rosa clara permanente. Os resultados foram expressos como mg de ácido ascórbico /100g da amostra.

3.4.8 Determinação da capacidade antioxidante

Inicialmente, para a determinação da atividade antioxidante das diferentes amostras processadas termicamente, os extratos foram obtidos de acordo com a metodologia descrita por RUFINO et al. (2007) e a capacidade antioxidante foi medida de acordo com a metodologia descrita por RE et al. (1999).

A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo método espectrofotométrico através da descoloração do radical livre ABTS⁺ [ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) diamônio].

O radical ABTS⁺ foi gerado através da reação da solução aquosa de ABTS 7mM com solução de persulfato de potássio (Sigma-Aldrich® Brasil, São Paulo) 140mM. Manteve-se a mistura no escuro por 14h e em seguida diluiu-se com água destilada para obter absorvância de $0,7 \pm 0,02$ a 734nm.

Uma amostra de suco com aproximadamente 3g foi submetida a uma extração em duas etapas: extração com metanol 50% e extração com acetona 70%. Após a extração, os extratos (sobrenadantes) foram recolhidos em balão volumétrico e o volume completado com água destilada. Em seguida, 30µL do extrato do suco foi adicionado em tubo de ensaio contendo 3mL da solução do radical ABTS⁺. A quantificação foi obtida através da reação do extrato da amostra com o radical ABTS⁺ durante seis minutos, através da leitura de absorvância realizada a 734nm em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em µmol Trolox/g de amostra.

3.4.9 Determinação dos compostos fenólicos totais

Foi utilizado o método espectrofotométrico proposto por Singleton e Rossi (1965) modificado por Georgé et al. (2005) para a quantificação dos compostos fenólicos totais.

Os extratos foram obtidos pela extração do suco de tangerina com acetona 70% por 30 minutos. Em seguida, foi realizada uma filtração rápida em papel de filtro e diluição do filtrado com água destilada em uma razão de 1:10.

O extrato obtido foi submetido à reação com a solução de *Folin-Ciocalteu* em meio alcalino. Após a reação foi realizada a leitura da absorvância em espectrofotômetro em comprimento de onda 760nm. Os resultados foram expressos em mg ácido gálico/100g de amostra.

3.4.10 Determinação da atividade de pectinesterase

A avaliação da atividade de pectinesterase foi realizada segundo a metodologia proposta por Rouse e Atkins (1955), de acordo com as modificações propostas por Kim et al. (1999) e Badolato (2000) para o suco de laranja. Para esta análise foi utilizado um titulador automático da Metler® DL21 com a função pHSTAT. Este método baseia-se na quantificação do acréscimo de grupos carboxílicos livres e a atividade da enzima é expressa em miligramas de CH₃OH liberado por um período medido em minutos por grama ou mililitro do suco (PEU/mL ou PEU/g) ou como o equivalente de éster hidrolisado por minuto.

Inicialmente foram medidos com auxílio da proveta 50mL de solução de pectina a 1% contendo 0,2 M de NaCl. Em seguida foram adicionados 5,0mL do suco de tangerina e após a adição do suco o pH do meio foi ajustado para 7,5.

A temperatura do substrato foi mantida constante a 30°C e à medida que ocorreu a redução do pH para valores inferiores a 7,5 uma pequena alíquota de uma solução de NaOH com concentração 0,05M foi adicionada a fim de se manter o pH constante em 7,5, ao longo

de toda a reação. Transcorrido o tempo necessário para a reação, calculou-se a atividade da pectinesterase (PEU/mL) através da equação abaixo descrita:

$$\text{PEU} \times 10^4 / \text{mL ou g} = \frac{M_{\text{NaOH}} \times V_{\text{NaOH}}}{V_{\text{amostra}} \times \text{tempo de reação (min.)}} \times 10^4$$

M_{NaOH} – molaridade da solução de NaOH

V_{NaOH} – volume gasto da solução de NaOH em mL

V_{amostra} – volume da amostra em mililitros utilizado na reação

3.4.11 Determinação microbiológica do suco

As matérias-primas (frutos de tangerina *in natura*) foram analisadas conforme resolução da ANVISA RDC nº 12 (Brasil, 2001) que determina a realização das análises de Coliformes a 45°C/g e *Salmonella* sp/25g como padrões microbiológicos para suco de frutas.

Adicionalmente foi realizada a contagem de fungos filamentosos e leveduras, pois são indicadores da qualidade higiênico-sanitária no processamento dos alimentos, principalmente os de caráter ácido (pH<4,5).

No suco de tangerina, as análises microbiológicas realizadas nas etapas de otimização do processo foram:

I. Determinação de Coliformes a 45°C/g pela técnica do número mais provável (NMP)

Esta técnica, descrita por Andrews e Hammack (2003), é dividida em fase presuntiva e fase confirmativa. A fase presuntiva foi realizada em caldo lauril sulfato triptose (LST), com três séries de diluição subsequentes em triplicata, sendo incubados em estufa a 35°C por 48 horas.

Após a verificação da presença de gás nos tubos de Duran, foi transferida com auxílio da alça de níquel-cromo uma alíquota de cada tubo positivo de LST para tubos contendo caldo EC, sendo incubados em banho-maria a 45°C por 24h.

Para os tubos positivos, ou seja, com a presença de gás nos tubos de Duran, verificou-se o resultado correspondente na tabela de Número Mais Provável (NMP), sendo expresso em NMP de coliformes a 45°C por mL de amostra.

II. Detecção de *Salmonella* sp./25g (FDA/CFSAN BAM)

Esta análise foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Andrews e Hammack (2008).

Foi feita a adição asséptica de 25mL da amostra de suco a 225mL de caldo lactosado, sendo incubado em estufa a 35°C por 24h (fase de pré-enriquecimento). Em seguida, transferiu-se 0,1mL da amostra pré-enriquecida para 10mL de caldo Rappaport-Vassiliades e incubados em banho-maria a 42°C por 24h.

Além disso, 1mL de amostra foi transferido para 10mL de caldo tetracionato para incubação em estufa a 35°C por 24h.

Após a incubação procedeu-se ao plaqueamento seletivo da fase anterior e de cepa de referência de *Salmonella* em placas contendo o ágar xilose lisina desoxicolato e o ágar entérico Hektoen.

Posteriormente, as placas foram incubadas em estufa a 35°C por 24h para verificação da colônia típica em comparação com o crescimento da cepa de referência.

III. Contagem de fungos filamentosos e leveduras

Esta análise foi conduzida segundo a metodologia descrita por Tournas et al. (2001).

Aplicou-se a técnica de plaqueamento em profundidade, utilizando como meio de cultura o ágar dextrose rosa bengala clorofenicol (DRBC).

Cada diluição foi plaqueada em duplicata e incubada a 25°C por cinco dias até a contagem e publicação dos resultados expressos em unidades formadoras de colônia por grama de amostra (UFC/g amostra).

3.4.12 Planejamento Experimental

O experimento foi realizado seguindo um ensaio fatorial completo 2^2 , com três repetições no ponto central e quatro pontos axiais. Este planejamento foi realizado, investigando-se um ajuste para os modelos linear e quadrático e buscou-se verificar a influência da temperatura, do tempo e da interação desses parâmetros no conteúdo dos compostos analisados.

Foram estudadas duas variáveis independentes: tempo e temperatura em uma região de observação entre 88°C a 100°C / 16 a 44s. As combinações de tratamento estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5. Combinações de tratamentos obtidos através do planejamento fatorial completo com ponto central

ENSAIO	NÍVEIS DE TEMPERATURA		NÍVEIS DE TEMPO	
	Variáveis codificadas	Temp.	Variáveis codificadas	Tempo
	(X1)	(°C)	(X2)	(s)
1	-1	90	-1	20
2	-1	90	1	40
3	0	94	0	30
4	0	94	0	30
5	0	94	0	30
6	1	98	-1	20
7	1	98	1	40
8	-1,41	88	0	30
9	1,41	100	0	30
10	0	94	-1,41	16
11	0	94	1,41	44

3.4.13 Análise estatística dos dados

Os dados foram avaliados através da análise estatística (ANOVA) no programa estatístico XLSTAT/Excel[®] e posteriormente pelo teste de Tukey a 5% de significância para verificar a diferença entre as médias.

Em seguida, a análise de variância do planejamento experimental (ANOVA - PLE) foi realizada através do programa estatístico Statistica 7.0 (STAT SOFT, 2004) no pacote de

estatística industrial, com ensaio experimental completo 2^2 , com três repetições no ponto central e quatro pontos axiais.

As Tabelas de análise da variância no planejamento experimental e as Tabelas dos coeficientes de regressão para as variáveis significativas estão apresentados nos anexos A e B.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Propriedades Físico-Químicas do Suco da Tangerina Murcote

Os resultados referentes às determinações físico-químicas no suco de tangerina murcote submetido, de acordo com o planejamento experimental, a 11 tratamentos térmicos e seu controle (o suco *in natura* e o centrifugado) estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Valores médios da caracterização físico-química do suco de tangerina pasteurizado

Amostras	Parâmetros			
	Sólidos Totais (g/100mL)	Sólidos Solúveis (°Brix)	pH	Acidez Titulável (g ácido cítrico/100mL)
<i>in natura</i>	11,60 ^a ±0,73*	11,00 ^c ±0,00	4,27 ^b ±0,02	0,48 ^e ±0,01
centrifugado	10,12 ^b ±1,58	10,77 ^d ±0,06	4,28 ^b ±0,00	0,46 ^f ±0,00
88°C/30s	10,63 ^{ab} ±0,15	10,47 ^e ±0,06	4,02 ^f ±0,01	0,51 ^c ±0,00
90°C/20s	11,01 ^{ab} ±0,08	10,73 ^d ±0,06	4,25 ^c ±0,01	0,46 ^f ±0,01
90°C/40s	11,34 ^{ab} ±0,11	11,27 ^b ±0,06	4,23 ^{de} ±0,01	0,48 ^e ±0,01
94°C/16s	10,49 ^{ab} ±0,05	10,43 ^e ±0,12	4,01 ^f ±0,01	0,52 ^c ±0,01
94°C/30s I	10,48 ^{ab} ±0,05	10,20 ^f ±0,00	4,34 ^a ±0,01	0,41 ^g ±0,00
94°C/30s II	10,52 ^{ab} ±0,05	10,27 ^f ±0,12	4,35 ^a ±0,01	0,41 ^g ±0,00
94°C/30s III	10,52 ^{ab} ±0,22	10,40 ^e ±0,00	4,34 ^a ±0,01	0,41 ^g ±0,01
94°C/44s	11,04 ^{ab} ±0,05	10,50 ^e ±0,00	3,96 ^g ±0,01	0,54 ^b ±0,01
98°C/20s	11,35 ^{ab} ±0,06	11,43 ^a ±0,12	4,22 ^d ±0,00	0,50 ^d ±0,00
98°C/40s	11,40 ^{ab} ±0,04	11,37 ^{ab} ±0,06	4,21 ^e ±0,01	0,50 ^d ±0,01
100°C/30s	10,80 ^{ab} ±0,26	11,00 ^c ±0,00	3,96 ^g ±0,01	0,56 ^a ±0,00

Letras diferentes na mesma coluna evidenciam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

* Média ± desvio padrão

O suco submetido a diferentes condições de processamento térmico apresentou para os parâmetros físico-químicos avaliados diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras analisadas.

4.1.1 Sólidos totais

O suco processado nos diferentes binômios não apresentou diferenças significativas entre si ($p > 0,05$) para o teor dos sólidos totais. Nestes binômios foi detectado um leve aumento na concentração dos sólidos totais comparado ao suco centrifugado devido a uma concentração do suco quando exposto a elevadas temperaturas num determinado tempo de retenção.

Porém, foi observada uma redução significativa no teor de sólidos totais quando o suco *in natura* foi submetido ao processo de refino por centrifugação. Esta redução foi proporcionada pela retenção das partículas maiores encontradas no suco após o processo de extração, sendo separadas pela centrifugação. Segundo Santos et al. (2009), os alvéolos em suspensão presentes nos sucos de frutas cítricas são eliminados em grande parte nos processos de filtração/centrifugação.

A análise de variância (ANOVA - PLE) através do ensaio experimental completo 2², com três repetições no ponto central e quatro pontos axiais, dos dados apresentados na Tabela 6, mostrou que as variáveis (tempo, temperatura e sua interação) não apresentaram influência significativa para estabelecer um modelo linear ou quadrático que pudesse descrever o comportamento observado para os resultados obtidos para os teores dos sólidos totais.

Desta forma, os dados determinados para os teores de sólidos totais não apresentaram efeitos significativos, tendo em vista que nenhuma das variáveis (temperatura, tempo e sua interação) no modelo linear e quadrático atingiu a linha p=0,05 como observado na Figura 19.

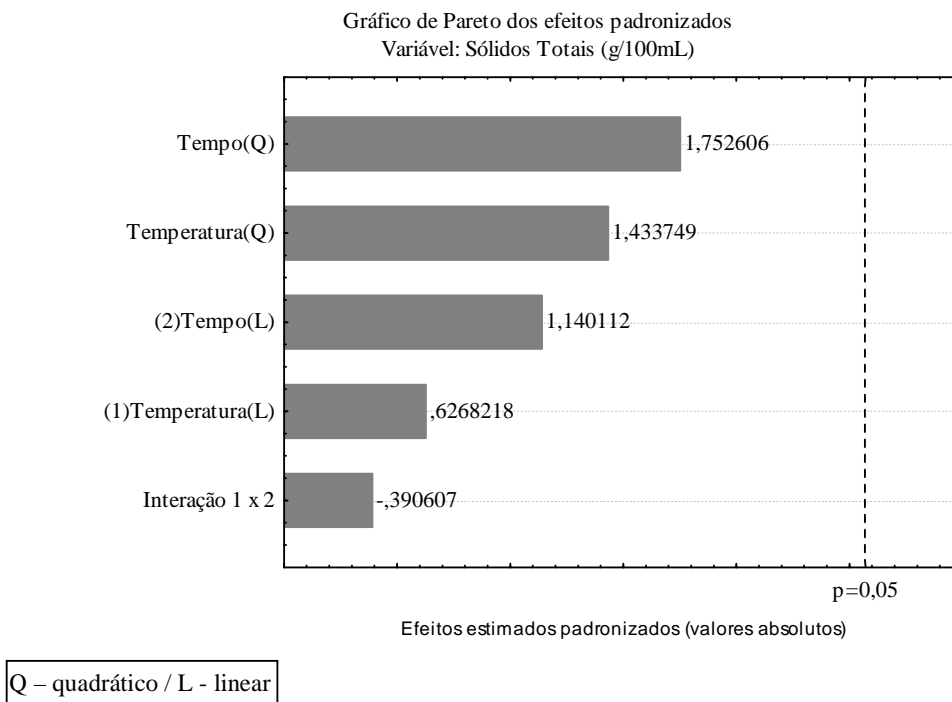


Figura 19. Gráfico de Pareto para os sólidos totais

4.1.2 Sólidos solúveis

Para o teor de sólidos solúveis (°Brix) foi verificada uma variabilidade significativa nos resultados apresentados na Tabela 6. O suco *in natura* apresentou uma redução significativa do teor de sólidos solúveis após a centrifugação. Esta redução pode estar atribuída à retenção dos sólidos solúveis aos alvéolos em suspensão retidos no processo de centrifugação.

Quando o suco centrifugado foi pasteurizado observou-se um aumento significativo desta variável em todos os processamentos, exceto no binômio 90°C/20s. Para Sugai et al. (2002) as diferenças existentes no valor °Brix do suco pode ser descrita em princípio pela variação existente na própria matéria-prima e principalmente pelos eventos que ocorrem durante a passagem do suco num trocador de calor, onde menores temperaturas e tempos de retenção proporcionam uma menor alteração no teor dos sólidos solúveis.

A análise de variância (ANOVA - PLE) realizada através do ensaio experimental completo 2², com três repetições no ponto central e quatro pontos axiais, dos dados apresentados na Tabela 6, mostrou que as variáveis (tempo, temperatura e sua interação) não apresentaram influência significativa para estabelecer um modelo linear ou quadrático que

pudesse descrever o comportamento observado para os resultados obtidos para os teores dos sólidos solúveis (°Brix).

Desta forma os dados determinados para os teores de sólidos solúveis (°Brix) não apresentaram efeitos significativos, tendo em vista que nenhuma das variáveis (temperatura, tempo e sua interação) no modelo linear e quadrático atingiu a linha $p=0,05$, como observado na Figura 20.

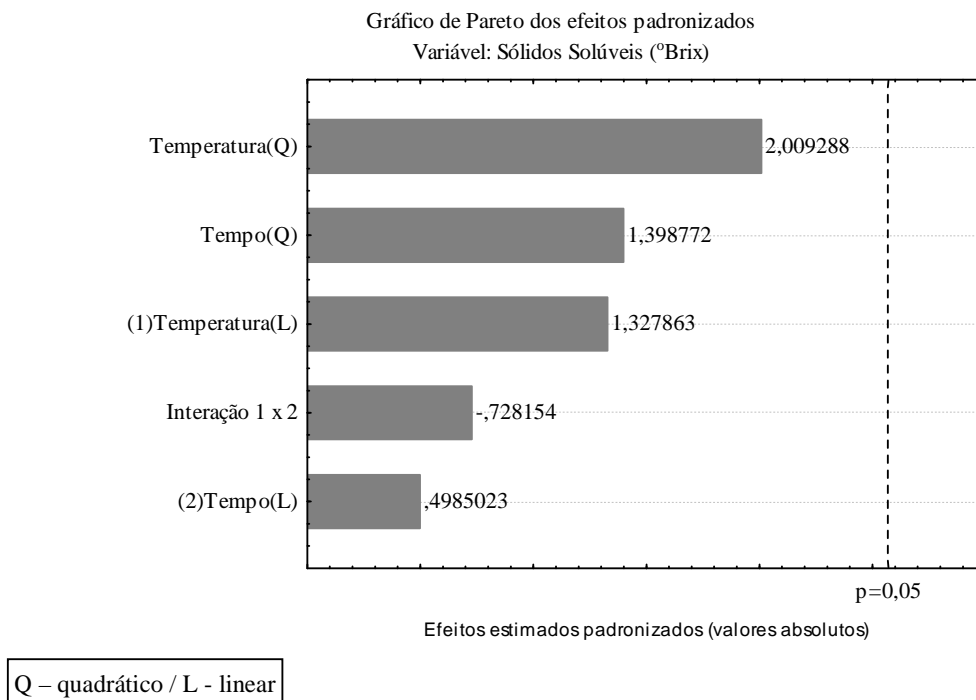


Figura 20. Gráfico de Pareto para os sólidos solúveis (°Brix)

4.1.3 Valores de pH e acidez

Os valores de pH para o suco *in natura* e o centrifugado não apresentaram variação significativa ($p>0,05$), indicando que a centrifugação realizada no suco não propiciou alterações nos valores de acidez.

Porém, quando o suco foi submetido aos tratamentos térmicos, todos os binômios apresentaram diferença estatística com as amostras *in natura*. Os maiores valores de pH e, conseqüentemente, os menores valores de acidez foram observados nos binômios do ponto central do delineamento estatístico (94°C/30s I, 94°C/30s II, 94°C/3s III).

Esse aumento significativo do pH e redução significativa da acidez pode ter ocorrido devido à degradação dos ácidos orgânicos presentes no suco de tangerina no processo de pasteurização ou pela volatilização do CO₂, adsorvido nas etapas preliminares do processamento do suco, na etapa de aquecimento do processamento térmico. Maia et al. (2007), em estudo com suco de acerola pasteurizado, observaram após o tratamento térmico um aumento do pH de 3,09 para 3,12 e redução da acidez total (expressa em % ácido cítrico) de 0,98 para 0,92.

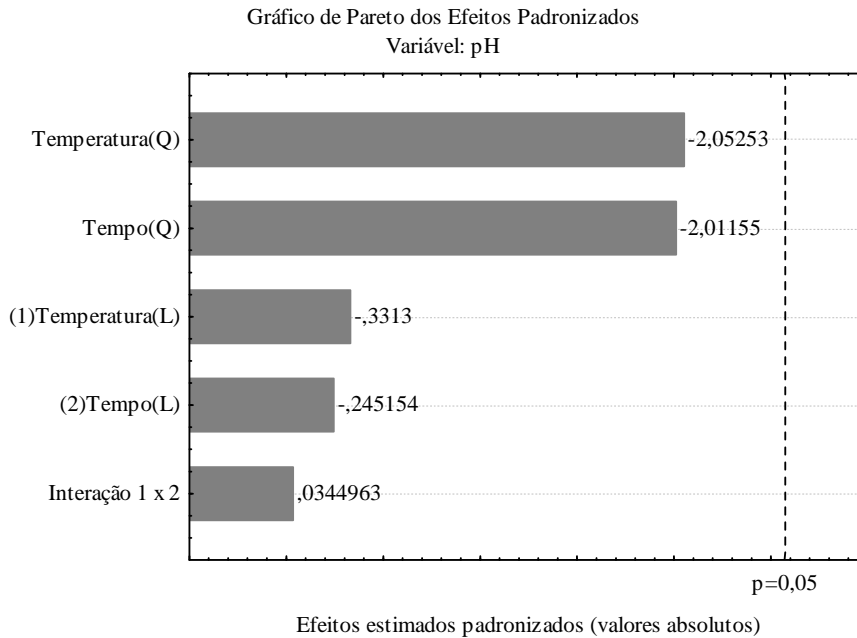
Porém, foi observado em alguns binômios, conforme a Tabela 6, uma redução no valor do pH, paralelamente a um aumento no valor da acidez. Este evento pode ter ocorrido devido à concentração do suco nestas condições de tratamento térmico.

Collet et al. (2005) observaram na pasteurização contínua do suco de laranja uma redução de 0,7 no valor do pH quando o suco foi pasteurizado a 82,5°C/13,9s comparado ao suco pasteurizado a 82,5°C/11s.

Santos et al. (2009) observaram a redução do pH de 2,86 do suco de laranja *in natura* para 2,63 no suco pasteurizado.

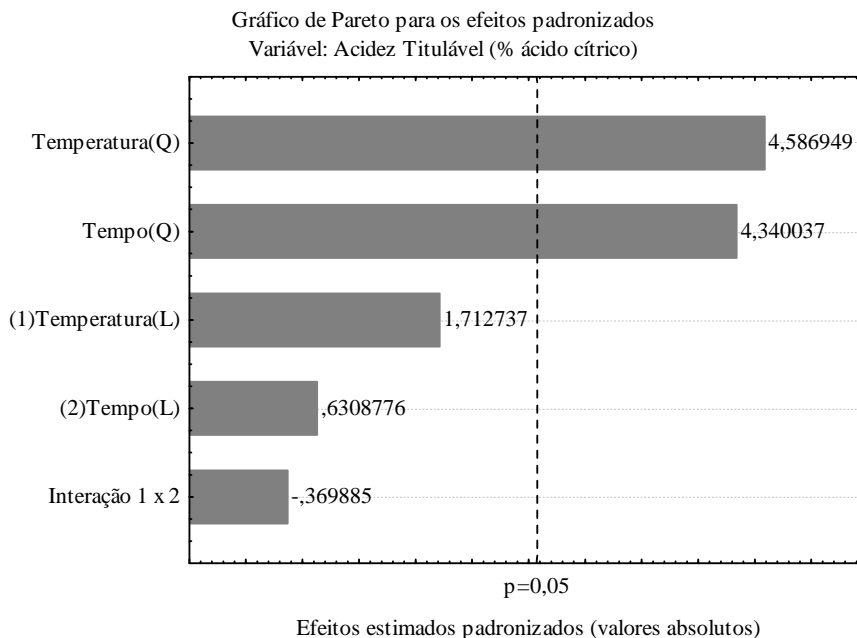
A análise de variância (ANOVA - PLE) verificou que os resultados obtidos para os valores de pH não sofreram de forma significativa a influência da temperatura, do tempo e da interação dessas variáveis para estabelecer um modelo linear ou quadrático que pudesse descrever o efeito observado, conforme observado na Figura 21.

Os valores de acidez (% ácido cítrico) sofreram de forma significativa a influência da temperatura e do tempo nas condições de processamento utilizadas, ultrapassando a linha $p=0,05$ conforme observado na Figura 22. A interação temperatura x tempo não influenciou significativamente os resultados obtidos para a acidez.



Q – quadrático / L - linear

Figura 21. Gráfico de Pareto para os valores de pH



Q – quadrático / L - linear

Figura 22. Gráfico de Pareto para os valores de acidez titulável (% ácido cítrico)

Em relação aos valores de acidez verificou-se a ocorrência de um aumento à medida que se elevaram a temperatura e o tempo do processamento (Figura 23), sendo esta elevação expressa através de um modelo quadrático para os níveis dos fatores reais escolhidos para o planejamento experimental.

Este evento pode ter ocorrido devido à concentração do suco nas condições de tratamento térmico com temperaturas e tempos elevados.

A equação que representa este aumento da acidez está descrita abaixo, através da Equação 1.

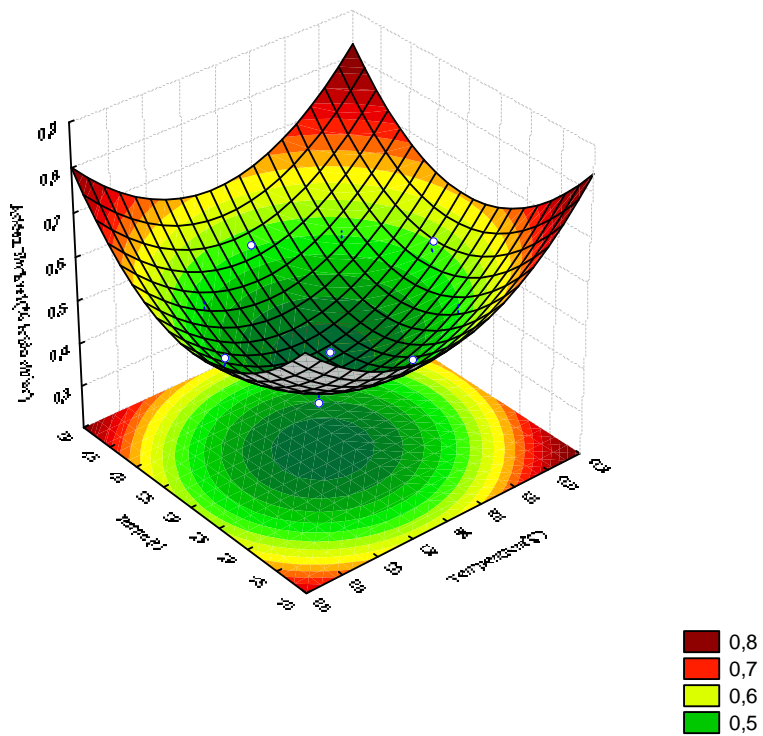
$$y = 18,8 - 0,39T + 0,002T^2 + 0,00002t^2 \quad \text{Eq. 1}$$

onde:

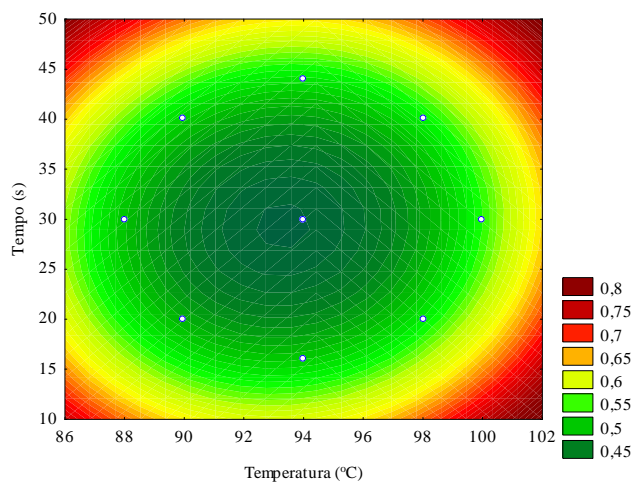
y = aumento da acidez do suco da tangerina murcote pasteurizado

T = temperatura (°C) utilizada na pasteurização

t = tempo (segundos) utilizado na pasteurização



(a)



(b)

Figura 23. Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) para o aumento da acidez titulável (expressa em % ácido cítrico)

4.2 Carotenóides

Baseado no seu perfil, os resultados dos teores dos carotenóides totais expressos em μg de β -criptoxantina. 100mL^{-1} de suco da tangerina murcote em diferentes condições de pasteurização são mostrados na Tabela 7.

Tabela 7. Teores dos carotenóides totais presentes no suco da tangerina murcote

Amostras	Carotenóides Totais (μg de β -criptoxantina. 100mL^{-1})
<i>In natura</i>	1609,95 ^b \pm 46,09*
90°C/20s	1281,33 ^e \pm 19,20
90°C/40s	1297,63 ^{de} \pm 16,13
98°C/20s	1342,71 ^{cde} \pm 3,07
98°C/40s	1328,05 ^{cde} \pm 56,08
94°C/30s I	1426,36 ^{cd} \pm 38,41
94°C/30s II	1643,63 ^{ab} \pm 26,12
94°C/30s III	1443,20 ^c \pm 53,00
94°C/16s	1562,70 ^{ab} \pm 16,90
94°C/44s	1760,41 ^a \pm 56,08
88°C/30s	1420,39 ^{cde} \pm 26,89
100°C/30s	1129,79 ^f \pm 35,34

Letras diferentes na mesma coluna evidenciam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

* Média \pm desvio padrão

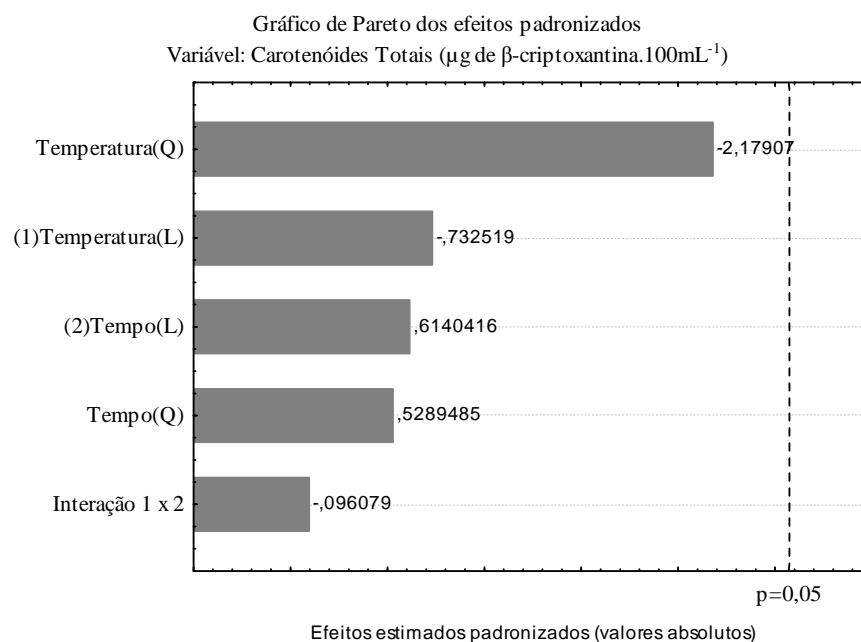
Foi observado para o suco *in natura* da tangerina murcote um teor de carotenóides totais de $1609,95 \pm 46,09 \mu\text{g}$ de β -criptoxantina. 100mL^{-1} de suco.

No suco pasteurizado observou-se uma grande variação nos resultados para carotenóides totais, de acordo com os processamentos térmicos realizados. Os binômios 94°C/44s e 94°C/30 II apresentaram aumentos de 9,3% e 2,1% quando comparados respectivamente, ao suco *in natura*. Nas demais condições de pasteurização observaram-se decréscimos no teor de carotenóides totais, sendo maior no processamento a 100°C/30s com perda de 29,8%.

Wang et al. (2007) observaram o valor de $336 \pm 5 \mu\text{g/g}$ na base seca para o teor dos carotenóides totais presentes no fruto da tangerina murcote. Em estudo realizado para avaliação nutricional dos sucos das frutas cítricas (laranja, laranja Jaffa), observou-se que o conteúdo de carotenóides totais foi de $300 \pm 140 \mu\text{g}/100\text{mL}$ e $300 \pm 140 \mu\text{g}/100\text{mL}$, respectivamente (GARDNER et al., 2000).

A análise de variância (ANOVA - PLE) dos valores determinados para os carotenóides totais expressos em μg de β -criptoxantina. 100mL^{-1} de suco (Tabela 7) mostrou que os resultados obtidos não sofreram influência significativa das variáveis (tempo, temperatura e de sua interação) para estabelecer um modelo linear ou quadrático que pudesse descrever o comportamento observado.

Desta forma, os dados para teores de carotenóides totais não apresentaram efeitos significativos, tendo em vista que nenhuma das variáveis (temperatura, tempo e sua interação) no modelo linear e quadrático atingiram a linha $p=0,05$ como observado na Figura 24.



Q – quadrático / L - linear

Figura 24. Gráfico de Pareto para os valores de carotenóides totais expressos em μg de β -criptoxantina.100mL⁻¹

Os resultados dos carotenóides presentes no suco da tangerina murcote são mostrados na Tabela 8. Os cromatogramas característicos das análises são apresentados no Anexo C.

Verificou-se que a β -criptoxantina foi o carotenóide presente em maior concentração no suco *in natura* com $667,0 \pm 21,21 \mu\text{g}/100\text{mL}$, seguida pelo β -caroteno ($96,5 \pm 4,95 \mu\text{g}/100\text{mL}$), luteína ($83,0 \pm 2,83 \mu\text{g}/100\text{mL}$) e zeaxantina ($70,0 \pm 0,0 \mu\text{g}/100\text{mL}$).

Tabela 8. Teores dos carotenóides presentes no suco da tangerina murcote

Amostras	Carotenóides			
	Luteína ($\mu\text{g}/100\text{mL}$)	Zeaxantina ($\mu\text{g}/100\text{mL}$)	β -Criptoxantina ($\mu\text{g}/100\text{mL}$)	β -Caroteno ($\mu\text{g}/100\text{mL}$)
<i>In natura</i>	83,0 ^{abc} \pm 2,83*	70,0 ^a \pm 0,0	667,0 ^a \pm 21,21	96,5 ^a \pm 4,95
90°C/20s	40,0 ^d \pm 5,66	30,0 ^b \pm 15,56	416,5 ^c \pm 36,06	67,5 ^a \pm 3,54
90°C/40s	74,0 ^{abcd} \pm 7,07	60,0 ^{ab} \pm 8,49	549,0 ^{ab} \pm 21,21	80,0 ^a \pm 1,41
98°C/20s	70,0 ^{abcd} \pm 11,31	71,5 ^a \pm 2,12	591,0 ^{ab} \pm 43,84	84,5 ^a \pm 14,85
98°C/40s	83,5 ^{abc} \pm 16,26	66,5 ^a \pm 10,61	614,0 ^{ab} \pm 16,97	82,5 ^a \pm 6,36
94°C/30s I	55,0 ^{cd} \pm 2,12	50,5 ^{ab} \pm 2,12	527,5 ^{bc} \pm 7,78	87,0 ^a \pm 2,83
94°C/30s II	82,0 ^{abc} \pm 15,56	66,5 ^a \pm 17,68	633,5 ^{ab} \pm 26,16	94,0 ^a \pm 2,83
94°C/30s III	97,0 ^a \pm 12,73	53,0 ^{ab} \pm 8,49	587,5 ^{ab} \pm 13,44	93,5 ^a \pm 3,54
94°C/16s	104,0 ^a \pm 2,83	55,0 ^{ab} \pm 1,41	610,0 ^{ab} \pm 42,43	92,5 ^a \pm 6,36
94°C/44s	90,0 ^{ab} \pm 2,83	54,5 ^{ab} \pm 4,95	662,5 ^a \pm 51,62	86,0 ^a \pm 22,63
88°C/30s	99,0 ^a \pm 1,41	60,5 ^{ab} \pm 0,71	632,5 ^{ab} \pm 6,36	93,5 ^a \pm 2,12
100°C/30s	60,0 ^{bcd} \pm 7,07	45,5 ^{ab} \pm 0,71	566,5 ^{ab} \pm 45,96	83,5 ^a \pm 9,19

Letras diferentes na mesma coluna evidenciam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

* Média \pm desvio padrão

Wang et al. (2007) relataram em estudo realizado com o fruto *in natura* da tangerina murcote a presença dos carotenóides luteína ($76,6 \pm 3,5 \mu\text{g}/100\text{g}$), zeaxantina ($294,0 \pm 13,7 \mu\text{g}/100\text{g}$), β -criptoxantina ($667,0 \pm 32,9 \mu\text{g}/100\text{g}$) e β -caroteno ($377,0 \pm 15,4 \mu\text{g}/100\text{g}$). Stewart (1977) encontrou para o suco *in natura* de tangerina murcote valores de $85,5 \mu\text{g}/100\text{mL}$ para luteína, $426,0 \mu\text{g}/100\text{mL}$ para β -criptoxantina e $43,5 \mu\text{g}/100\text{mL}$ para β -caroteno.

Os teores de zeaxantina, β -criptoxantina e β -caroteno foram menores comparados aos resultados obtidos por Wang et al. (2007), porém o teor de luteína obtido foi similar.

Para luteína, foi observado um aumento de concentração nos tratamentos térmicos realizados a 94°C/16s (25,3%), 88°C/30s (19,3%), 94°C/30s III (16,9%), 98°C/40s (0,6%), embora esses aumentos não sejam estatisticamente distintos ($p > 0,05$) do valor encontrado no suco *in natura*. Entretanto, foram observadas reduções no teor de luteína em seis das onze condições de pasteurização avaliadas, sendo que a maior redução ocorreu no binômio 90°C/20s.

Para zeaxantina e β -criptoxantina houve um decréscimo da concentração em dez tratamentos utilizados, porém esta redução foi significativa ($p < 0,05$) somente no binômio 90°C/20s com valores de 42,9% e 37,5%, respectivamente.

Dentre as onze diferentes condições aplicadas na pasteurização, nenhuma afetou de forma significativa a concentração de β -caroteno, porém para o binômio 90°C/20s houve uma redução de 30%.

Gama e Sylos (2007) observaram que a pasteurização do suco de laranja *var.* Valencia, realizada a 95-105°C/10s, ocasionou perdas de 20%, 11% e 9% para luteína, β -caroteno e zeaxantina, respectivamente. Entretanto, neste estudo foi observado um aumento de 4,8% na concentração de β -criptoxantina.

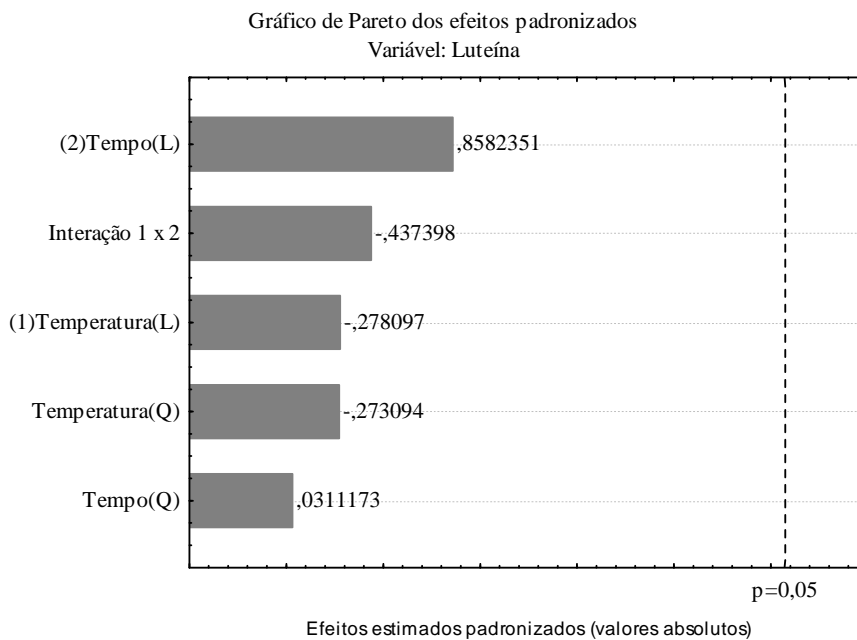
A literatura científica não apresenta, para fins de comparação, dados de estudos similares que tenham sido realizados com outras variedades de tangerina, principalmente em relação aos efeitos da pasteurização sob as qualidades nutricionais do suco.

Quanto ao aspecto químico, os carotenóides apresentam estabilidade e suscetibilidade variáveis quanto a oxidação (GAMA; SYLOS, 2007). A degradação oxidativa é considerada o

principal motivo que promove a perda de carotenóides, sendo potencializada pelo calor, luz, ação enzimática, co-oxidação com peróxidos provenientes da oxidação lipídica, presença de oxigênio, etc. (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

A análise de variância dos dados da Tabela 8, utilizando a ANOVA – PLE através do ensaio experimental completo 2^2 (com três repetições no ponto central e quatro pontos axiais) indicou que os resultados para luteína, zeaxantina, β -criptoxantina e β -caroteno não sofreram influência significativa da temperatura, tempo e da interação dessas variáveis estudadas para estabelecer um modelo linear ou quadrático que pudesse descrever os resultados obtidos.

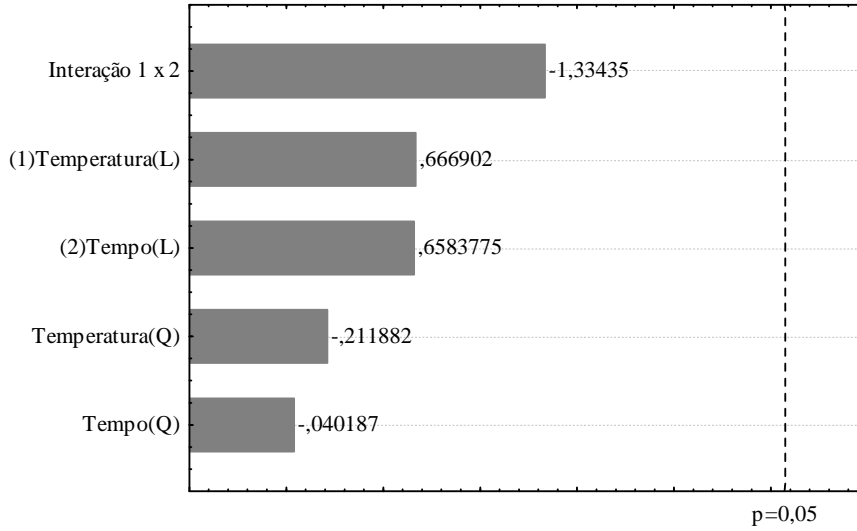
Os dados obtidos para carotenóides não apresentaram efeitos significativos, pois nenhuma das variáveis (temperatura e tempo) e sua interação atingiram no modelo linear e quadrático a linha $p=0,05$ como mostrado na Figura 25.



(a)

Q – quadrático / L - linear

Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados
Variável: Zeaxantina

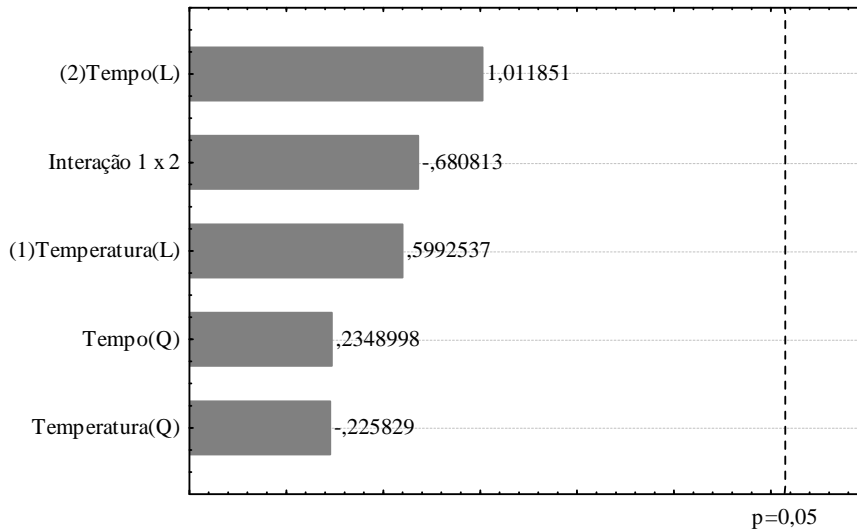


Efeitos estimados padronizados (valores absolutos)

(b)

Q – quadrático / L - linear

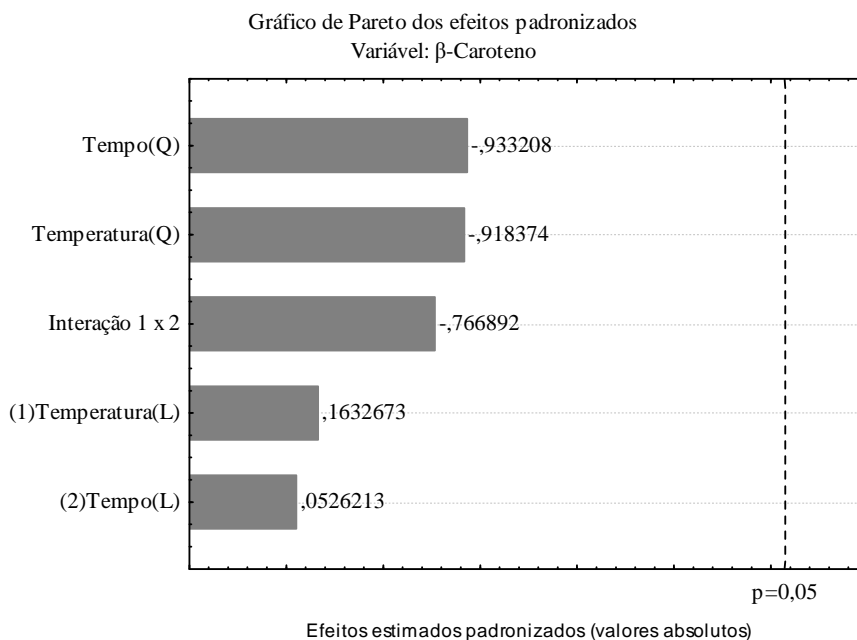
Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados
Variável: β -criptoxantina



Efeitos estimados padronizados (valores absolutos)

(c)

Q – quadrático / L - linear



(d)

Q – quadrático / L - linear

Figura 25. Gráficos de Pareto das variáveis luteína (a), zeaxantina (b), β -criptoxantina (c) e β -caroteno (d)

Verifica-se que os valores de retinol equivalente (RE) expresso em μg por 100mL de suco variaram de 46,26 ($90^{\circ}\text{C}/20\text{s}$) a 72,14 (*in natura*), respectivamente. Esta variação é devida à redução dos carotenóides pró-vitâmnicos A no processo de pasteurização do suco da tangerina murcote. Supondo-se que a densidade do suco seja igual a 1, é possível afirmar que um copo de 200mL, de suco pasteurizado a $90^{\circ}\text{C}/20\text{s}$ e *in natura*, forneceria 15,42% e 24,05% respectivamente, da ingestão diária recomendada de vitamina A que é de 600 μg retinol (RE) segundo a RDC n^o269 da Anvisa (BRASIL, 2005).

Tabela 9. Teor de retinol equivalente (RE) calculado com base nos teores médios de β -caroteno e β -criptoxantina determinados no suco da tangerina murcote

Amostras	Retinol Equivalente ($\mu\text{g}/100\text{mL}$)*	Redução (%)
<i>In natura</i>	72,14	-
90°C/20s	46,26	35,87
90°C/40s	59,48	17,55
98°C/20s	63,76	11,62
98°C/40s	65,35	9,41
94°C/30s I	58,84	18,44
94°C/30s II	68,91	4,48
94°C/30s III	64,96	9,95
94°C/16s	66,69	7,55
94°C/44s	70,0	2,97
88°C/30s	68,74	4,71
100°C/30s	61,53	14,71

*Onde: 1 μg retinol = 1 μg RE; 1 μg β -caroteno = 0,167 μg RE; 1 μg de β -criptoxantina = 0,084 μg RE (BRASIL, 2005).

4.3 Compostos Fenólicos Totais

Os resultados obtidos na quantificação dos compostos fenólicos totais são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Teor dos compostos fenólicos totais presentes no suco da tangerina murcote

Amostras	Fenólicos Totais (mg ácido gálico/100mL)
<i>In natura</i>	52,32 ^a \pm 5,97*
90°C/20s	44,48 ^a \pm 7,06
90°C/40s	48,40 ^a \pm 9,43
98°C/20s	53,34 ^a \pm 13,99
98°C/40s	51,58 ^a \pm 6,69
94°C/30s I	44,81 ^a \pm 2,79
94°C/30s II	51,60 ^a \pm 9,25
94°C/30s III	45,94 ^a \pm 6,94
94°C/16s	56,72 ^a \pm 4,33
94°C/44s	56,83 ^a \pm 7,54
88°C/30s	54,99 ^a \pm 2,07
100°C/30s	60,70 ^a \pm 3,57

Letras diferentes na mesma coluna evidenciam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

* Média \pm desvio padrão

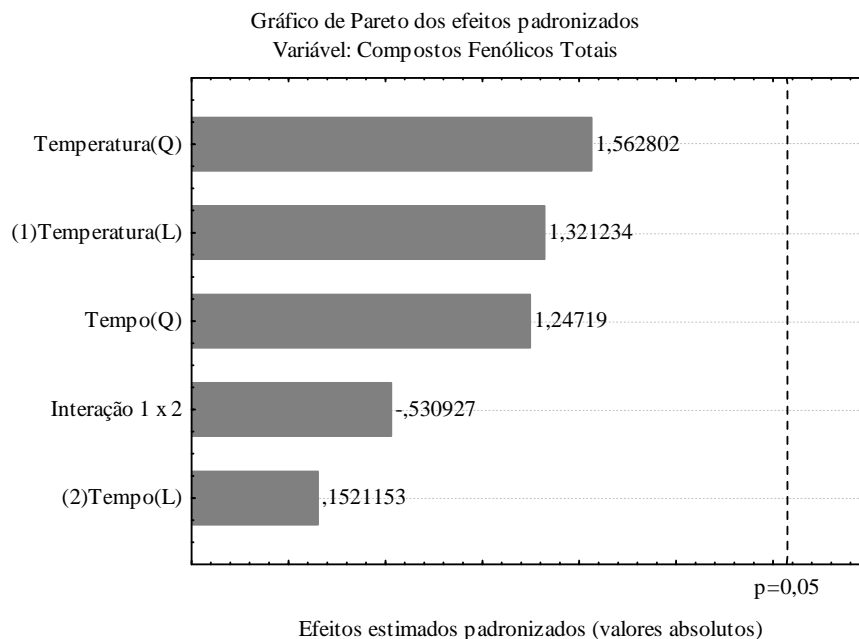
A concentração de compostos fenólicos totais no suco *in natura* da tangerina murcote foi de 52,32mg ácido gálico/100mL.

Gardner et al. (2000) observaram em estudo realizado nos sucos *in natura* de laranja, laranja Flórida e laranja Jaffa, teores de compostos fenólicos totais de 75,5, 59,1 e 50,4mg

ácido gálico/100mL de suco, respectivamente. Por serem variedades cítricas, os resultados encontram-se bem próximos ao encontrado para o suco da tangerina murcote.

Observa-se através dos resultados que os tratamentos realizados não afetaram significativamente ($p>0,05$) os teores de compostos fenólicos (Tabela 10). Porém, pode-se observar um aumento de 2%, 8,4%, 8,6%, 5,1% e 16% na concentração dos compostos fenólicos quando o suco foi submetido à pasteurização no binômios 98°C/20s, 94°C/16s, 94°C/44s, 88°C/30s e 100°C/30s, respectivamente. Portanto, esses binômios proporcionaram um reduzido aumento no conteúdo dos compostos fenólicos devido, provavelmente, à diminuição da quantidade de água (concentração) da amostra processada no trocador de calor.

A análise de variância (ANOVA - PLE) dos dados da Tabela 10 mostrou que os resultados dos compostos fenólicos totais não sofreram de forma significativa ($p>0,05$) a influência da temperatura, do tempo e das interações dessas variáveis para estabelecer um modelo linear ou quadrático que pudesse descrever o comportamento observado (Figura 26). Mesmo com aumentos em alguns tratamentos térmicos, não foi possível explicar esta elevação na concentração dos compostos fenólicos totais presentes no suco da tangerina murcote através de um modelo matemático linear e/ou quadrático.



Q – quadrático / L - linear

Figura 26. Gráfico de Pareto dos compostos fenólicos totais

4.4 Ácido Ascórbico (Vitamina C)

Os resultados obtidos na determinação do ácido ascórbico (vitamina C) para o suco da tangerina murcote são mostrados na Tabela 11.

A amostra do suco *in natura* apresentou um teor de vitamina C de 50,87mg ácido ascórbico/100mL de amostra.

Valores próximos foram obtidos por Beltrán et al. (2008) estudando o efeito da variedade de tangerina na qualidade do suco. As variedades *Clemenpons*, *Clemenules*,

Ellendale, Hernandina, Marisol, Nova, Orogrande e Ortanique, apresentaram valores de vitamina C de 45,4, 48,3, 45,4, 46,5, 46,7, 44,3, 44,6 e 46,5mg/100mL de suco, respectivamente.

Verificou-se que o conteúdo de ácido ascórbico do suco decresceu de forma significativa quando submetido à pasteurização térmica a 100°C/30s, apresentando uma redução de 27% se comparado ao suco *in natura*.

Tabela 11. Teor da vitamina C presente no suco da tangerina murcote

Amostras	Vitamina C (mg ácido ascórbico/100mL)
<i>In natura</i>	50,87 ^a ± 0,27*
90°C/20s	44,13 ^{ab} ± 5,87
90°C/40s	42,28 ^{ab} ± 2,88
98°C/20s	40,50 ^{ab} ± 2,81
98°C/40s	43,94 ^{ab} ± 2,78
94°C/30s I	50,98 ^a ± 3,00
94°C/30s II	51,00 ^a ± 2,76
94°C/30s III	50,89 ^a ± 3,17
94°C/16s	50,16 ^a ± 3,10
94°C/44s	49,10 ^a ± 5,93
88°C/30s	50,77 ^a ± 2,86
100°C/30s	37,19 ^b ± 2,90

Letras diferentes na mesma coluna evidenciam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

* Média ± desvio padrão

Estudos têm demonstrado que a pasteurização apresenta efeitos negativos na concentração de ácido ascórbico, como em outros parâmetros físico-químicos (viscosidade, densidade, teor de açúcares) (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2007; FARNWORTH et al., 2001; NAGY, 1980).

Somente os processamentos realizados no ponto central do delineamento estatístico (94°C/30s I, II e III) apresentaram pequenos aumentos não significativos no teor de ácido ascórbico.

Porém, observou-se que as amostras submetidas aos binômios 98°C/20s e 90°C/40s apresentaram uma redução mais elevada quando comparado aos processos que utilizaram temperatura e tempo maiores (Tabela 11).

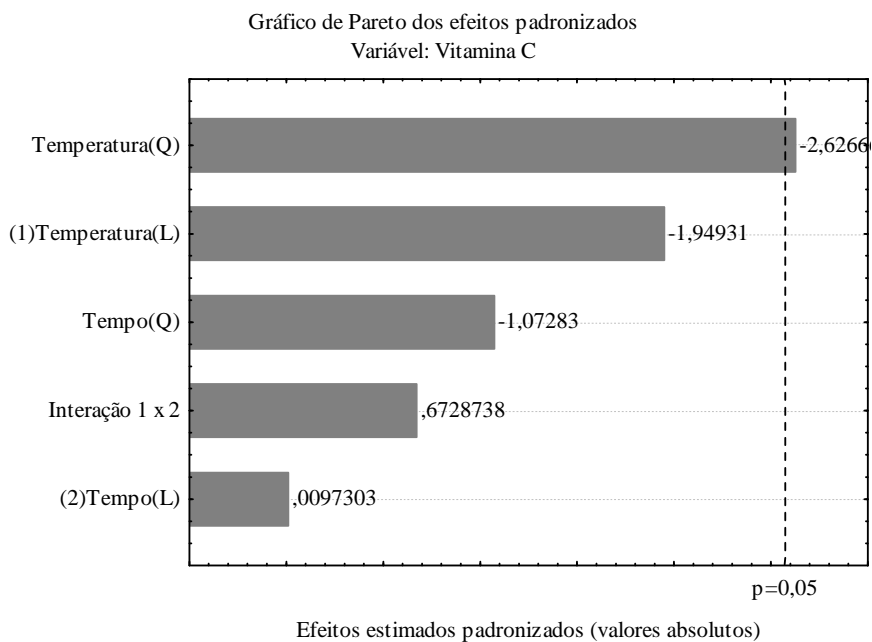
A análise de variância (ANOVA - PLE) dos dados da Tabela 11 mostrou que os valores obtidos para ácido ascórbico sofreram de forma significativa ($p > 0,05$) a influência da temperatura (Figura 27).

A degradação pode ser descrita através de um modelo quadrático, onde se observou que a pasteurização realizada a 100°C proporcionou a maior redução (Figura 28). Desta forma, quanto maior a temperatura maior a redução da vitamina C, descrita por um modelo matemático quadrático mostrado pela Equação 2.

$$y = 78,13 - 0,0036T^2 \quad \text{Eq.2}$$

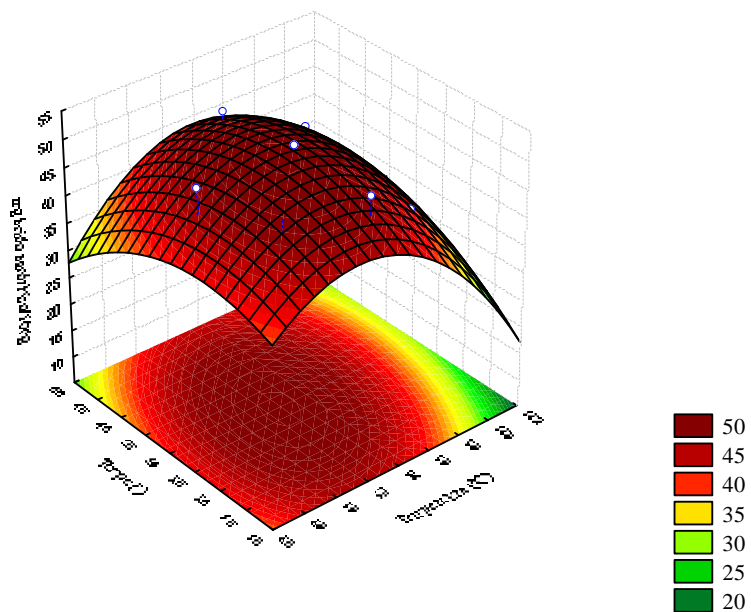
onde:

y – redução do teor da vitamina C do suco da tangerina murcote pasteurizado
 T – temperatura (°C) utilizada na pasteurização

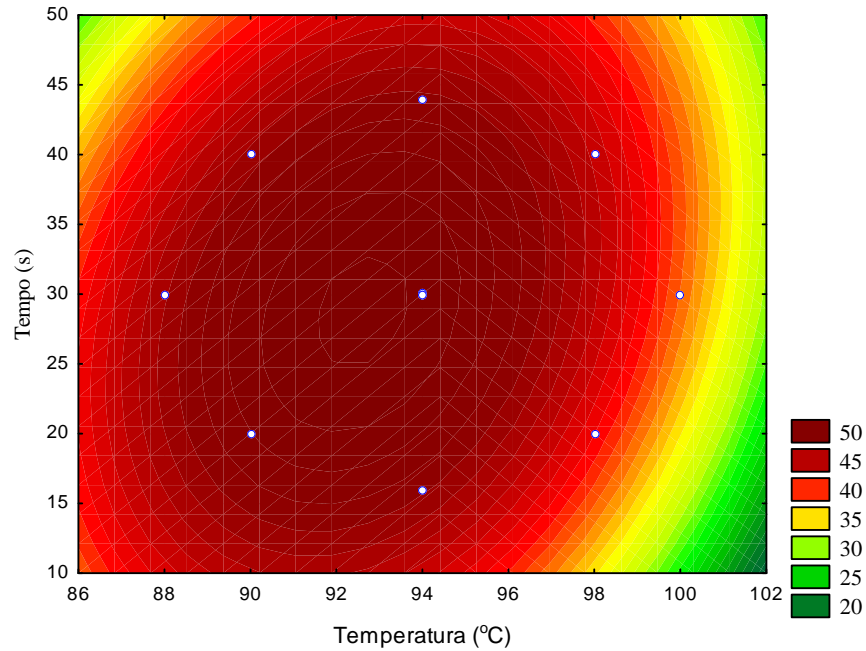


Q – quadrático / L - linear

Figura 27. Gráfico de Pareto da vitamina C



(a)



(b)

Figura 28. Superfície de resposta (a) e superfície de contorno (b) para a redução da vitamina C

4.5 Capacidade Antioxidante

Os resultados obtidos para a capacidade antioxidante do suco da tangerina murcote são mostrados na Tabela 12.

Tabela 12. Capacidade antioxidante do suco da tangerina murcote

Amostras	Atividade Antioxidante (mmol trolox/mL)	Redução (%)
<i>In natura</i>	3,27 ^a ± 0,11*	-
90°C/20s	2,34 ^{bc} ± 0,30	28,44
90°C/40s	3,02 ^{ab} ± 0,10	7,65
98°C/20s	2,27 ^{bc} ± 0,17	30,58
98°C/40s	2,42 ^{bc} ± 0,07	25,99
94°C/30s I	2,51 ^{bc} ± 0,11	23,24
94°C/30s II	2,26 ^c ± 0,32	30,89
94°C/30s III	2,27 ^c ± 0,40	30,58
94°C/16s	2,38 ^{bc} ± 0,21	27,22
94°C/44s	2,25 ^c ± 0,15	31,19
88°C/30s	2,70 ^{abc} ± 0,26	17,43
100°C/30s	2,16 ^c ± 0,07	33,94

Letras diferentes na mesma coluna evidenciam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

* Média ± desvio padrão

O maior valor de capacidade antioxidante foi observado no suco *in natura* equivalente a $3,27 \pm 0,11$ mmol trolox/mL. Porém, observou-se uma redução em todos os processamentos realizados, sendo que a pasteurização realizada nos binômios $90^{\circ}\text{C}/40\text{s}$ e $88^{\circ}\text{C}/30\text{s}$ ocasionou as menores perdas (7,65% e 17,43%, respectivamente) quando comparado ao suco *in natura*. A maior perda significativa (33,94%) foi observada no binômio com tempo e temperatura maiores ($100^{\circ}\text{C}/30\text{s}$). Este decréscimo acentuado ($p < 0,05$) da capacidade antioxidante está relacionado, provavelmente, à redução da concentração de ácido ascórbico.

Gardner et al. (2000) verificaram em seu estudo com suco de frutas cítricas que vitamina C e compostos fenólicos estão fortemente associados com a capacidade antioxidante. Os autores também verificaram que as maiores contribuições para a capacidade antioxidante das frutas cítricas foram dadas pela vitamina C, equivalendo a 100% para a laranja Flórida.

A análise de variância (ANOVA -PLE) dos dados da Tabela 12 mostrou que os valores da capacidade antioxidante determinados nos sucos pasteurizados não sofreram de forma significativa ($p > 0,05$) a influência da temperatura, do tempo e das interações dessas variáveis para estabelecer um modelo linear ou quadrático que pudesse descrever o comportamento observado (Figura 29).

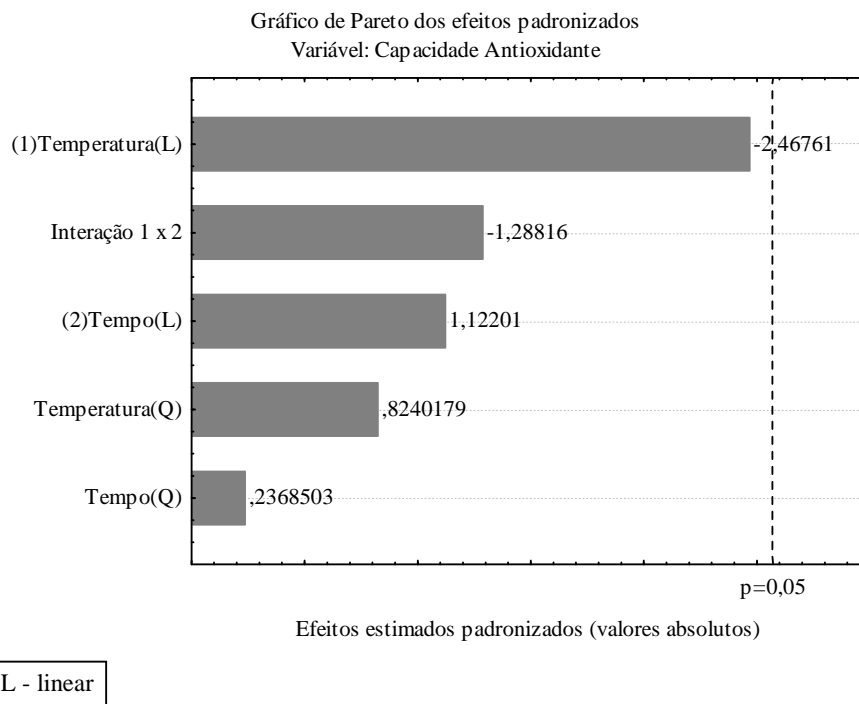


Figura 29. Gráfico de Pareto para capacidade antioxidante

4.6 Análises Microbiológicas

Na Tabela 13 são apresentados os resultados das análises microbiológicas das amostras de sucos de tangerina submetidos às diferentes condições de tratamento térmico.

Observou-se uma elevada contagem de fungos filamentosos e leveduras na amostra de suco *in natura*. Mesmo não sendo considerada para efeitos de legislação (RDC nº12/2001 da Anvisa) como padrão microbiológico sanitário para o alimento analisado, essa

determinação é de fundamental importância para avaliação da qualidade higiênico-sanitário dos alimentos.

Tabela 13. Resultados das determinações microbiológicas do suco de tangerina murcote

Amostras	Microrganismos		
	Contagem de Fungos Filamentosos e Leveduras (UFC/mL)	Coliformes a 45°C (NMP/mL)	<i>Salmonella</i> sp. (Ausência em 25mL)
<i>In natura</i>	4,0 x 10 ⁴	9	Ausência
centrifugado	2,2 x 10 ⁴	<3	Ausência
88°C/30s	<10	<3	Ausência
90°C/20s	<10	<3	Ausência
90°C/40s	<10	<3	Ausência
94°C/16s	<10	<3	Ausência
94°C/30s I	<10	<3	Ausência
94°C/30s II	<10	<3	Ausência
94°C/30s III	<10	<3	Ausência
94°C/44s	<10	<3	Ausência
98°C/20s	<10	<3	Ausência
98°C/40s	<10	<3	Ausência
100°C/30s	<10	<3	Ausência

UFC/mL – Unidade formadora de colônia por mililitro. NMP/mL – número mais provável por mililitro

Oliveira et al. (2006) relataram resultados similares em estudo realizado com suco de laranja *in natura* comercializados em diferentes pontos de comercialização que a contagem de fungos filamentosos e leveduras foi de 10⁴-10⁵ UFC/mL.

O processo de centrifugação não afetou diretamente a contagem de fungos filamentosos e leveduras do suco centrifugado. Porém, observou-se uma pequena redução na contagem dos coliformes a 45°C, sendo esta possivelmente potencializada pela malha utilizada na centrifugação, na qual ficaram retidos os fragmentos de menor superfície específica presentes no suco.

Todas as amostras, principalmente do suco *in natura* e do suco centrifugado apresentaram a ausência da *Salmonella* sp. em 25mL de amostra.

Em todas as amostras processadas termicamente observou-se contagem de bolores e leveduras inferior a 10 UFC/mL, coliformes a 45°C inferior a 3 NMP/mL e ausência de *Salmonella* sp. em 25mL de amostra. Desta forma, os tratamentos térmicos realizados foram eficientes na redução da carga microbiana e adequação as conformidades da legislação RDC nº12 da Anvisa que estabelece os padrões microbiológicos sanitários para segurança dos alimentos (BRASIL, 2001), que determina uma contagem máxima de 10² NMP/mL para Coliformes à 45°C e ausência da *Salmonella* sp. em 25mL de amostra.

4.7 Açúcares

Os teores dos açúcares estão apresentados na Tabela 14. A sacarose, a glicose e a frutose foram os açúcares quantificados e identificados no suco de tangerina murcote. O cromatograma característico da análise é apresentado no Anexo E.

Tabela 14. Teores de sacarose, glicose e frutose no suco da tangerina murcote

Amostras	Açúcares*		
	Sacarose (g/100mL)	Glicose (g/100mL)	Frutose (g/100mL)
<i>In natura</i>	3,84 ^a ± 0,66	2,68 ^a ± 0,11	3,03 ^a ± 0,14
centrifugado	4,09 ^a ± 0,18	2,70 ^a ± 0,37	3,10 ^a ± 0,25
90°C/20s	3,94 ^a ± 0,13	2,80 ^a ± 0,18	2,94 ^a ± 0,08
90°C/40s	4,09 ^a ± 0,28	2,68 ^a ± 0,13	3,03 ^a ± 0,31
98°C/20s	4,05 ^a ± 0,17	2,76 ^a ± 0,17	2,97 ^a ± 0,14
98°C/40s	4,11 ^a ± 0,55	2,72 ^a ± 0,09	3,06 ^a ± 0,12
94°C/30s I	4,01 ^a ± 0,52	2,67 ^a ± 0,22	2,89 ^a ± 0,16
94°C/30s II	3,94 ^a ± 0,34	2,70 ^a ± 0,06	2,94 ^a ± 0,09
94°C/30s III	4,01 ^a ± 0,44	2,69 ^a ± 0,14	2,77 ^a ± 0,13
94°C/16s	4,02 ^a ± 0,12	2,63 ^a ± 0,12	2,99 ^a ± 0,13
94°C/44s	3,94 ^a ± 0,43	2,76 ^a ± 0,23	3,01 ^a ± 0,06
88°C/30s	4,06 ^a ± 0,27	2,68 ^a ± 0,13	2,86 ^a ± 0,29
100°C/30s	3,99 ^a ± 0,11	2,82 ^a ± 0,26	3,07 ^a ± 0,15

Letras diferentes na mesma coluna evidenciam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

* Média ± desvio padrão

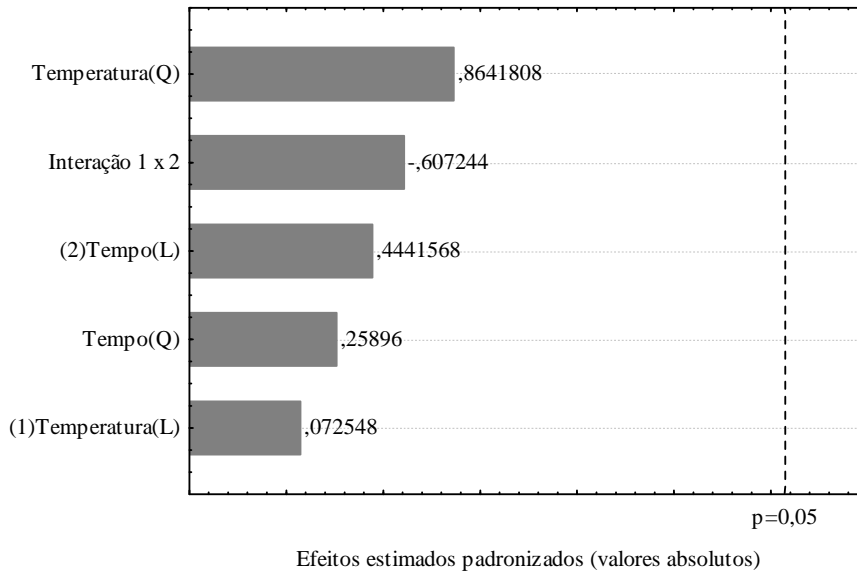
Os dados apresentados na Tabela 14 mostram que os resultados obtidos para os sucos *in natura*, centrifugado e pasteurizado (nas 11 condições de tratamento térmico) não apresentaram diferenças significativas ao nível de 5% de significância, através do teste de comparação médias utilizado. Desta forma os tratamentos térmicos realizados não provocaram alterações significativas no teor de açúcar presente nos sucos *in natura*, centrifugado e pasteurizado.

Essa ocorrência desejável pode estar fundamentada na utilização de temperaturas elevadas em tempos reduzidos no processo de pasteurização, sendo imediatamente resfriados a uma temperatura menor que 25°C.

Segundo Ribeiro (2009), as alterações que normalmente podem ocorrer no perfil de açúcares, em decorrência do processamento térmico prolongado, é a conversão da sacarose, através de um processo de hidrólise ácida, em açúcares mais simples (monossacarídeos) ou a caramelização.

A análise de variância (ANOVA - PLE) dos dados da Tabela 14 reforçou a resposta obtida no teste de comparação de médias (Tukey) e mostrou que as variáveis tempo e temperatura assim como a sua interação não apresentaram influência significativa ($p>0,05$) para estabelecer um modelo linear ou quadrático que pudesse descrever os resultados obtidos para os açúcares determinados, conforme observado na Figura 30.

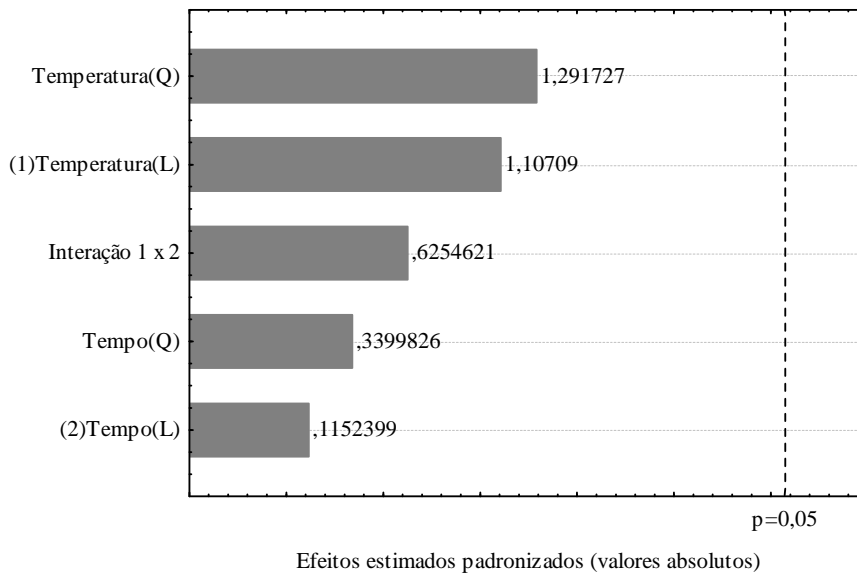
Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados
 Variável: Sacarose



(a)

Q – quadrático / L - linear

Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados
 Variável: Glicose



(b)

Q – quadrático / L - linear

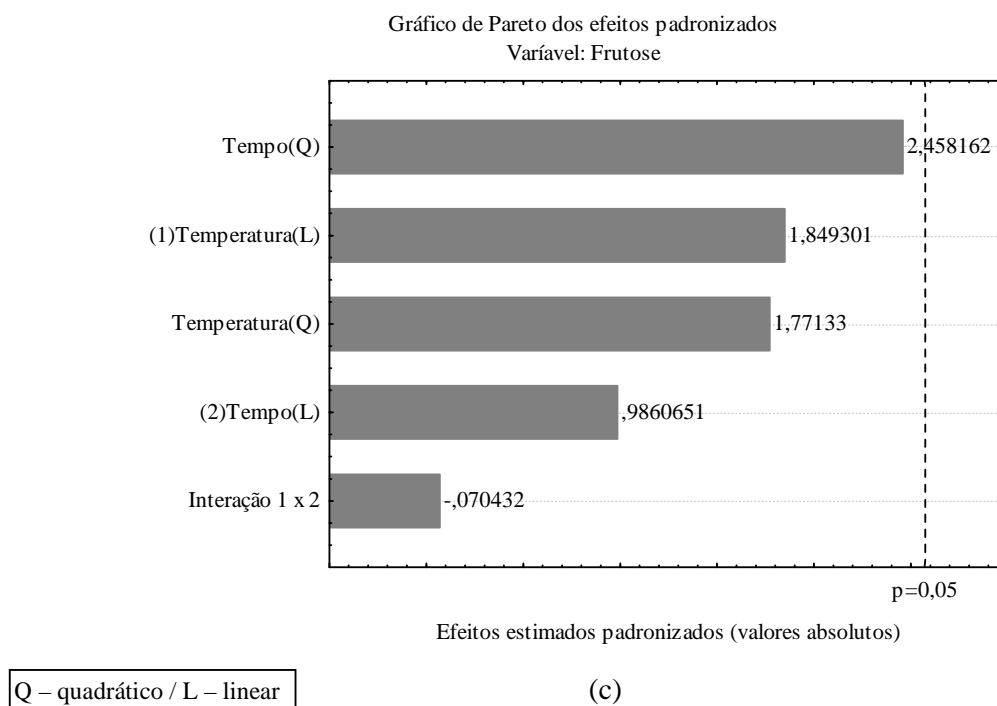


Figura 30. Gráficos de Pareto das variáveis sacarose (a), glicose (b) e frutose (c)

4.8 Atividade Enzimática da Pectinesterase

Os resultados para análise da atividade da enzima pectinolítica pectinesterase estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Atividade da pectinesterase presente no suco da tangerina murcote *in natura*, centrifugado e pasteurizado e respectivas taxas (%) de redução da atividade

Amostras	Atividade PEU x 10 ⁴ /mL de amostra*	Redução da Atividade (%)
<i>In natura</i>	2,05 x 10 ¹	0
centrifugado	0,589 x 10 ¹	71,27
90°C/20s	Não detectado	100
90°C/40s	Não detectado	100
98°C/20s	Não detectado	100
98°C/40s	Não detectado	100
94°C/30s I	Não detectado	100
94°C/30s II	Não detectado	100
94°C/30s III	Não detectado	100
94°C/16s	Não detectado	100
94°C/44s	Não detectado	100
88°C/30s	Não detectado	100
100°C/30s	Não detectado	100

O suco da tangerina murcote *in natura* apresentou uma atividade de $2,05 \times 10^1$ PEU x 10^4 /mL de suco, conforme apresentado na Tabela 15.

Verificou-se que o processo de centrifugação realizado com o objetivo de remover parte da polpa presente no suco, causou uma redução de 71,27% na atividade da enzima presente no suco. Esta redução está relacionada com a retenção da enzima, juntamente com os alvéolos em suspensão presentes no suco *in natura*, no processo de centrifugação.

Torres et al. (2008) estudaram a melhoria da intensidade do sabor da tangerina Clementina através da pasteurização do suco e da polpa separados por centrifugação a 10000rpm e observou uma atividade enzimática de $8,0 \times 10^{-3}$ nanokatal/mL para a fração do suco pasteurizado a 60°C/15s e uma atividade enzimática de $6,5 \times 10^{-2}$ nanokatal/mL para a fração da polpa pasteurizada a 85°C/15s.

Desta forma, os autores evidenciaram a necessidade de realização de um tratamento térmico superior na polpa, pois a centrifugação possibilitou uma retenção maior da pectinesterase.

Os sucos pasteurizados nas diferentes condições térmicas estabelecidas através do planejamento experimental resultaram na inativação de 100% da atividade da enzima pectinesterase. Desta forma, a atividade enzimática além de ser considerado parâmetro para a qualidade dos sucos das frutas cítricas, verificou-se que todas as condições de pasteurização aplicadas ao suco foram efetivas para a inativação total desta enzima.

Sentandreu et al. (2005) estudaram a inativação da enzima pectinesterase nos sucos das variedades de laranja (*Citrus sinensis*) Salustina e Lane late, das variedades da tangerina Clementina (*Citrus reticulata*), Marisol, Clemenules e Hernandina, além do híbrido Ortanique (*Citrus reticulata* x *Citrus sinensis*) sob diferentes condições de tratamento térmico. Os autores observaram que somente os sucos das variedades Lane latem, Salustiana, Clemenules e o híbrido Ortanique pasteurizados em temperaturas de 90-95°C/20s apresentaram uma pequena atividade residual da pectinesterase.

Badolato (2005) observou na pasteurização do suco de laranja que a condição mais apropriada para a inativação enzimática da pectinesterase foi à temperatura de pasteurização de 87°C e tempo de retenção variando conforme o pH do suco, sendo para o pH 4,0 um tempo de retenção maior que para os valores de pH 3,4 ou 4,5.

Collet et al. (2005) estudaram a inativação térmica da pectinesterase no suco de laranja pasteurizado nas temperaturas de 82,5°C, 85°C e 87,5°C e observaram que o aumento do tempo de retenção no processo de pasteurização promove um aumento insignificante na inativação da enzima.

Segundo Sampedro et al. (2008) para a inativação térmica completa da pectinesterase em bebida mista de suco de laranja e leite é necessário um tratamento térmico de pasteurização de 90°C por 1 minuto.

5 CONCLUSÕES

- Foi possível reduzir 71,27% da atividade da enzima pectinesterase por centrifugação do suco, o que prova que a maior concentração desta enzima esta associada com a polpa removida no processo de centrifugação.
- A pasteurização, em todas as condições testadas, inativou 100% da pectinesterase.
- Não houve diferença significativa nos teores de açúcares em nível de 5% de significância nos tratamentos térmicos realizados.
- Todas as condições de pasteurização utilizadas neste estudo promoveram a redução da carga microbiana presente no suco *in natura*, atendendo desta forma os parâmetros estabelecidos pela legislação vigente. Do ponto de vista da preservação de vários componentes nutricionais do suco, a pasteurização realizada com a menor temperatura possibilitou a redução microbiológica desejada.
- Todos tratamentos térmicos realizados reduziram a capacidade antioxidante do suco. A maior redução (34%) foi observada no suco pasteurizado a 100°C/30s.
- A pasteurização realizada a 100°C/30s proporcionou a maior perda de vitamina C (27%) no suco.
- Os tratamentos térmicos realizados não provocaram alterações significativas (nível de 5% de significância) nos teores de fenólicos totais.
- Os teores de carotenóides do suco apresentaram reduções significativas, principalmente na pasteurização realizada a 100°C/30s.
- Sólidos totais e sólidos solúveis não foram afetados pelos tratamentos térmicos aplicados. No entanto, acidez e pH apresentaram diferenças significativas entre as médias dos resultados dos sucos pasteurizados.
- As condições estabelecidas nos experimentos não permitiram estabelecer o melhor binômio (tempo e temperatura) para pasteurização do suco da tangerina murcote, considerando as características nutricionais como parâmetros de qualidade para este produto.

6 RECOMENDAÇÕES DE PESQUISA

- Estudar a vida-de-prateleira do suco da tangerina murcote para avaliar a estabilidade de diferentes nutrientes ao longo do período de armazenamento.
- Realizar análise sensorial do suco da tangerina murcote pasteurizado e utilizá-la como parâmetro adicional de qualidade.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIR. Associação brasileira das Indústrias de refrigerantes e bebidas não-alcoólicas. In: _____. **Sucos**. Disponível em: <http://www.abir.org.br/article.php?id_article=2768>. Acesso em: 22 out. 2009.
- AHERNE, S.A.; O'BRIEN, N.M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and, metabolism. **Nutrition**, v. 18, n. 1, p. 75-81, 2002.
- ALKORTA, I.; GARBISU, C.; LLAMA, M. J.; SERRA, J. L. Industrial applications of pectic enzymes: a review. **Process Chemistry**, v. 33, n. 1, p. 21-28, 1998.
- ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; SAURA-CALIXTO, F. D.; RUFINO, M. S. M.; PÉREZ-JIMENEZ, J. Compostos com propriedades funcionais em frutas. **II Simpósio Brasileiro de Pós-Colheita**, p. 179 – 187, 2007.
- AMARO, A. A.; CASER, D. V. Diversidade do mercado de tangerinas. **Informações Econômicas**, v. 33, n. 12, p. 51-67, 2003.
- ANDREWS, W. H.; HAMMACK, T. S. Food sampling and preparation of sample homogenate. In: CENTER FOR FOOD SAFETY AND APPLIED NUTRITION (U.S.). **Bacteriological analytical manual online**. 2003. chap.1. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-1.html>>. Acesso em: 15 set. 2008.
- ANDREWS, W. H.; HAMMACK, T. S. *Salmonella*. In: CENTER FOR FOOD SAFETY AND APPLIED NUTRITION (U.S.). **Bacteriological analytical manual online**. 2007. chap.5. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-5.html>>. Acesso em: 15 set. 2008.
- AOAC – Association of official analytical chemists. **“Official methods of analysis of AOAC international”**. 17th ed. Washington 2000.
- ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends in Food Science & Technology**, v. 11, p. 419-421, 2000.
- AZEVEDO, F. A.; PIO, R. M. Influência da polinização sobre o número de sementes do Tangor-”Murcote”. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 2, p. 468-471, 2002.
- BADOLATO, G. G. **Tratamento térmico mínimo do suco de laranja natural: cinética da inativação da pectinesterase**. São Paulo. 2000, 157p. Dissertação de Mestrado. Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia Química (USP).
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191–203, 2006.

BARBASSO, D. V. **Caracterização fenológica e físico-química de variedades de tangerina em três porta-enxertos**. Campinas, 2005, 108p., Dissertação (Mestrado), Instituto Agronômico de Campinas (IAC).

BRASIL. Resolução ANVISA/MS RDC nº 12, de 2 de Janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA. 54p.

BRASIL. Resolução ANVISA/MS nº269, de 22 de Setembro de 2005. Regulamento Técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 set. 2005.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutritional Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

BASAK, K.; RAMASWAMY, H. S. Ultra high pressure treatment of orange juice: a kinetic study on inactivation of pectin methyl esterase. **Food Research International**, v. 26, n. 7, p. 601-607, 1996.

BECKER, E. M.; NISSEN, L. R.; SKIBSTED, L. H. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects review. **European Food Research and Technology**, v. 219, p. 561-571, 2004.

BELTRÁN, F.; PÉREZ-LÓPEZ, A. J.; LÓPEZ-NICOLÁS, J. M.; CARBONELL-BORRACHINA, A. A. Effects of mandarin cultivar on quality of mandarin juice. **Food Science and Technology International**, London, v. 14, n. 4, p. 307-313, 2008.

BENASSI, M. T.; ANTUNES, A. J. A. Comparison of meta-phosphoric and oxalic acids as extractant solutions for determination of vitamin C in selected vegetables. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 31, n. 4, p. 507-503, 1998.

BURNS, J. et al. Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, p. 5797-5808, 2001.

CANO, A.; MEDINA, A.; BERMEJO, A. Bioactive compounds in different citrus varieties. Discrimination among cultivars. **Journal of Composition and Analysis**, v. 21, p. 377-381, 2008.

CASER, D. V.; AMARO, A. A. Tangerina: tendências de cultivo no Estado de São Paulo. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, v.1, n.12, 2006.

CASTALDO, D.; QUAGLIVOLO, L.; SERVILLO, L.; BALESTRIERI, C.; GIOVANE, A. Isolation and characterization of pectin methylesterase from apple fruit. **Journal of Food Science**, v. 54, p. 653-655, 1989.

CHANG, C. H.; LIN, H. Y.; CHANG, C. Y.; LIU, Y. C. Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes. **Journal of Food Engineering**, v. 77, p. 478-489, 2006.

CHAMARRO, J.; ALONSO, J. M.; GARCIA-MARTINEZ, J. L. Enzymes in citrus fruits. In: FOX, P. F., ed. **Food Enzymology**. London, Elsevier, v. 1, p. 599-624, 1991.

CHEYNIER, V. Polyphenols in foods are more complex than often thought **American Journal Clinical Nutrition**, v. 81, p. 223-229, 2005.

COLLET, L. S. F. C. A.; SHIGEOKA, D. S.; BADOLATO, G. G.; TADINI, C. C. A kinetic study on pectinesterase inactivation during continuous pasteurization of orange juice. **Journal of Food Engineering**, v. 69, p. 125–129, 2005.

CORRÊA NETO, R. S.; FARIA, J. A. F. Fatores que influem na qualidade do suco de laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 153-160, 1999.

DAVIES, F. S.; ALBRIGO, L. G. **Crop production in horticulture 2. Citrus**. London: CAB INTERNATIONAL, 1994. 254p.

DAVEY, M. W.; VAN MONTAGU, M., INZE', D.; SANMARTIN, M.; KANELIS, A.; SMIRNOFF, N.; et al. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 825–860, 2000.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DOMINGUES, A. M. **Avaliação do Processo de pasteurização térmica de néctar de abacaxi (*Ananás comosus* L.)**. Seropédica, 2003. 91 p. Dissertação - (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

DUGO, P.; HERRERO, M.; KUMM, T.; GIUFFRIDA, D.; DUGO, G.; MONDELLO, L. Comprehensive normal-phase×reversed-phase liquid chromatography coupled to photodiode array and mass spectrometry detection for the analysis of free carotenoids and carotenoid esters from mandarin. **Journal of Chromatography**, v.1189, p. 196-206, 2008.

DUMAS, Y., DADOMO, M., LUCCA, G., GROLIER, P. Review. Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. **Journal of Science Food Agricultural**, v. 83, p. 369-382, 2003.

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

ELEZ-MARTÍNEZ, P.; MARTÍN-BELLOSO, O. Effects of high intensity pulsed electric field processing conditions on vitamin C and antioxidant capacity of orange juice and *gazpacho*, a cold vegetable soup. **Food Chemistry**, London, v. 102, p. 201-209, 2007.

ENGELHART, M. J.; GEERLINGS, M. I.; RUITENBERG, A.; VAN SWIETEN, J. C.; HOFMAN, A., WITTENAM, J. C. M., et al. Dietary intake of antioxidants and risk of Alzheimer disease. **Journal of the American Medical Association**, v. 287, p. 3223–3229, 2002.

FAYYAZ, A.; ASBI, B. A.; GHAZALI, Y. B.; CHE MAN, Y. M. & JINAP, S. Kinetics of papaya pectinesterase. **Food Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 129-135, 1995.

FARNWORTH, E. R.; LAGACÉ, M.; COUTURE, R., YAYLAYAN, V.; STEWART, B. Thermal processing, storage conditions, and the compositions and physical properties of orange juice. **Food Research International**, Barking, v.34, p. 25-30, 2001.

FELLERS, J. P.; CARTER, R. D. Effect of thermal processing and storage chilled orange juice on flavor quality. **Fruit Processing**, v. 3, n. 12, p. 436-441, 1993.

FIGUEIREDO, J. O. de. Variedades copa de valor comercial. In: RODRIGUEZ, O.; VIEGAS, F.; POMPEU JÚNIOR, J.; AMARO, A. A. (Coord.), **Citricultura brasileira**. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v.1, p.228-264.

FIGUEIREDO, J. O.; NEGRI, J. D.; JÚNIOR, D. M.; PIO, R. M.; AZEVEDO, F. A.; GARCIA, V. X. P. Comportamento de 16 porta-enxertos para o tangor Murcott na região de Itirapina-SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 76-78, 2006.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **Agriannual 2005**: anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo: FNP, 2005. 520p.

FONSECA, H. Princípios e métodos gerais de conservação de alimentos: conservação pelo calor e pelo frio. In: CAMARGO, R. (Coord.) **Tecnologia dos produtos agropecuários: alimentos**. São Paulo: Nobel, 1984. cap. 5, p. 73-95.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**. Atheneu. São Paulo, 2005.

GAHLER, S.; OTTO, K.; BÖHM, V. Alterations of vitamin C, total phenolics, and antioxidant capacity as affected by processing tomatoes to different products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 7962-7968, 2003.

GAMA, J. J. T.; SYLOS, C. M. Effect of thermal pasteurization and concentration on carotenoid composition of Brazilian Valencia orange juice. **Food Chemistry**, London, v. 100, n. 4, p. 1686-1690, 2007.

GAMA, J. J. T. **Efeito do processo de obtenção do catchup sobre seus compostos antioxidantes, capacidade sequestrante do radical DPPH e cor**. Araraquara, 2008, 169p. Tese (Doutorado), Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição.

GARDNER, P. T.; WHITE, T. A. C.; MCPHAIL, D. B.; DUTHIE, G. G. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. **Food Chemistry**, London, v. 68, p. 471-474, 2000.

GEORGÉ, S.; BRAT, P.; ALTER, P.; AMIOT, M. J. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1370-1373, 2005.

GIANNAKOUROU, M. C.; TAOUKIS, P. S. Kinetic modeling of vitamin C loss in frozen

green vegetables under variable storage conditions. **Food Chemistry**, London, v. 83, p. 33-41, 2003.

GOODNER K. L.; ROUSEFF R. L.; HOFSSOMMER H. J. Orange, mandarin, and hybrid classification using multivariate statistics based on carotenoid profiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 3, p. 1146-1150, 2001.

GORINSTEIN, S.; CVIKROVA, M.; MACHACKOVA, I.; HARUENKIT, R.; PARK, Y. S.; JUNG, S. T. et al Characterization of antioxidant compounds in Jaffa sweets and white grapefruits. **Food Chemistry**, v. 84, p. 503-510, 2004.

GRIMBLE, R. F. Effect of antioxidative vitamins on immune function with clinical applications. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 67, p. 312-320, 1997.

GUTIERREZ, C. C. G. C. **Distribuição do tempo de residência em processo de pasteurização com trocador de calor a placas**, 2008, 97p. Dissertação (Mestrado), Escola Politécnica da Escola de São Paulo, Departamento de Engenharia Química.

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

HOROWITZ, W. (Ed.). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. International. 16th ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 1997. 1298p.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays – review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

HSU, K. C. Evaluation of processing qualities of tomato juice induced by thermal and pressure processing. **LWT-Food Science and Technology**, v.41, p. 450-459, 2008.

INGALLINERA, B.; BARBAGALLO, R. N.; SPAGNA, G.; PALMERI, R.; TODARO, A. Effects of thermal treatments on pectinesterase activity determined in blood oranges juices. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 36, p. 258-263, 2005.

JAYANI, R. S.; SHIVALIKA S.; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: A review. **Process Biochemistry**, n. 40, p. 2931-2944, 2005.

LEACH, G.; OLIVEIRA, G.; MORAIS, R.; Production of a carotenoid-rich product by alginate entrapment and fluid-bed drying of *Dunaliella salina*. **Journal of the Science of Food and Agricultural**, v. 76, n. 2, p. 298-302, 1998.

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

- LEE, H.S.; CASTLE, W.S.; COATES, G.A. High-performance liquid chromatography for the characterization of carotenoids in the new sweet orange (Earlygold) grown in Florida, USA. **Journal of Chromatography A**, v. 913, p. 371-377, 2001.
- LEE, H. S; COATES, G. A. Effect of thermal pasteurization on Valencia orange juice color and pigments. **Lebensmittel - Wissenschaft und Technnologie - Food Science and Technology**, v. 36, p. 153-156, 2003.
- LESSIN, W. J.; CATGNANI, G. L.; SCHWARTZ, S. J. Quantification of cis-trans isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 3728-3732, 1997.
- KIM, H. B.; TADINI, C. C.; SINGH, R. K. Effect of different pasteurization conditions on enzyme inactivation of orange juice pilot-scale experiments. **Journal of Food Process Engineering**, v. 22, n. 5, p. 395-403, 1999.
- KLIMCZAK, I; MALECKA, M.; SZLACHTA, M.; GLISZCZYNSKA-SWIGLO, A. 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, p. 313-322, 2007.
- KOLLER, O. C. **Citricultura: laranja, limão e tangerina**. Porto alegre: Editora Rigel, 1994. 446p.
- MACRAE, R. Food Science and Technology: **A series of monographs: HPLC in food analysis**. 2 ed. New York: Academic Press, 1998. 77 p.
- MAIA, A. G.; SOUZA, M. H. P.; SANTOS, M. G.; SILVA, S. D.; FERNANDES, G. A.; PRADO, M. G. Efeito do processamento sobre componentes do suco de acerola. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 130-134, 2007.
- MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, p. 727-747, 2004.
- MARES-PERLMAN, J. A. Contribution of epidemiology to understanding relations of diet to age-related cataract. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 66, p. 739-740, 1997.
- MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 50, n. 1, p. 5-18, 2000.
- MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Provitamin A carotenoids and ascorbic acid contents of the different types of orange juices marketed in Spain. **Food Chemistry**, v. 101, p. 177-184, 2007.
- MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presente em alimentos. **Boletim SBCTA**, v. 36, n.1, p. 1-11, 2002.

- MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 2, p. 193-201, 2008.
- MIEAN, K. H.; MOHAMED, S. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.3106-3112, 2001.
- MILANESIO, M.; BIANCHI, R.; UGLIENGO, P.; ROETTI AND C.; VITERBO, D. Vitamin C at 120 K: experimental and theoretical study of the charge density. **Journal of Molecular Structure Theochem**, v. 419, p. 139-154, 1997.
- NAGY, S. Vitamin C contents of citrus fruit and their products: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton v. 28, p. 8-18, 1980.
- NAIDU, K. A. Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. **Journal of Nutrition**, v. 2, p. 7-16, 2003.
- NAZCK, M.; SHAHIDI, F. Extration and analysis of phenolics in food review. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 95-111, 2004.
- NESS, A. R.; KHAW, K. T.; BINGHAM, S.; DAY, N. E. Vitamin C status and serum lipids. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 50, p. 724-729, 1996.
- OGUNLESI, A. T.; LEE, C. Y. Effect of thermal processing on the stereoisomerisation of major carotenoids and vitamin A value of carrots. **Food Chemistry**, v. 4, n. 4, p.311-318, 1979.
- OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. **Journal of Chromatography A**, v. 881, p. 543-555, 2000.
- OLIVEIRA, J. C.; SETTI-PERDIGÃO, P.; SIQUEIRA, K. A. G.; SANTOS, A. C.; MIGUEL, M. A. L. Características microbiológicas do suco de laranja in natura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 241-245, 2006.
- OLSON, J. A. Benefits and Liabilities of Vitamin A and Carotenoids. **Journal of Nutrition**, v. 126, n. 4, p. 1208-1212, 1996.
- OMONI, A.O.; ALUKO, R.E. The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, p. 344-350, 2005.
- ÖZGUR, M. Ü.; SUNGUR, S. Third order derivative spectrophotometric determination of ascorbic acid in fruits and vegetables. **Talanta**, v. 42, p. 1631-1640, 1995.
- PARISH, M.E.; HIGGINS, D. Isolation and identification of lactic acid bacteria from samples of citrus molasses and unpasteurized orange juice. **Journal of Food Science**, v. 53, p. 645-646, 1988.
- PARISH, M.E. Microbiological concerns in citrus juice processing. **Food Technology**, v. 45, p. 128-132, 1991.

PÉREZ-LÓPEZ, A. J.; CARBONELL-BORRACHINA, A. A. Volatile odour components and sensory quality of fresh and processed mandarin juices. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, n. 86, p. 2404-2411, 2006.

PINHEIRO, A. M.; FERNANDES, A. G.; FAI, A. E. C.; PRADO, G. M.; SOUZA, P. H. M.; MAIA, G. A. Avaliação química, físico-química e microbiológica de sucos de frutas integrais: abacaxi, caju e maracujá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 98-103, 2006.

PIO, R. M. A qualidade e as exigências do mercado de tangerinas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, 2003.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. v. 1, 4 ed. Brasília, 2005. 1018p.

RAPISARDA, P; TOMAINO, A.; LO CASCIO, R.; BONINA, F.; DE PASQUALE, A.; SAIJA, A. Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh oranges juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p. 4718-4723, 2001.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999

RHODES, M. J. C. Physiologically-active compounds in plant foods: an overview **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 55, p. 371-397, 1996.

RIBEIRO, M. L. **Efeito do processamento térmico nas características físico-químicas, nutricionais, microbiológicas e na atividade enzimática de polpa de mamão Formosa (*Carica papaya L.*)**, 2009, 103p. Dissertação (Mestrado), Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

RIVAS, A.; RODRIGO, D.; MARTÍNEZ, A.; BARBOSA-CÁNOVAZ, G. V.; RODRIGO, M. Effect of PEF and heat pasteurization on the physical–chemical characteristics of blended orange and carrot juice. **LWT-Food Science and Technology**, v. 39, p. 1163-1170, 2006.

ROBBINS, R. J. Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, 2866–2887, 2003.

ROCK, C. L. Carotenoids: biology and treatment. **Pharmacology Therapeutics**, v.75, p.185-197, 1997.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **A guide to carotenoid in analysis in foods**. Washington: OMNI Research, 1999. 59 p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. 1^a ed., Washington: ILSI Press, 2001. 64p.

RODRIGUEZ-AMAYA D.; KIMURA M. **HarvestPlus Handbook for Carotenoids Analysis**, Technical Monograph Series 2, Washington DC: HarvestPlus, 2004.

ROJAS, A. M.; GERSCHENSON, L.N. Ascorbic acid destruction in sweet aqueous model

- systems. **LWT- Food Science Technology**, v. 30, p. 567-572, 1997.
- ROUSE, A. H.; ATKINS, C. D. Heat inactivation of pectinesterase in citrus juice. **Food Chemistry**, Londosn, v. 6, n. 8, p. 291-294, 1952.
- ROUSE, A. H.; ATKINS, C. D. Pectinesterase and pectin in commercial orange juice as determined by methods used at the Citrus Experiment Station. **Florida Agricultural and Experimental Station Bulletin**, v. 570, p. 1-19, 1955.
- ROUSEFF, R. L.; MARTIN, S. F.; YOUTSEY, C. O. Quantitative survey of narirutin, naringin, hesperidin, and neohesperidin in Citrus. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 35, p. 1027–1030, 1987.
- ROTHSCHILD, G.; VLIET, C. V.; KARSENTY, A. Pasteurization conditions for juice comminuted products of Israeli citrus fruit. **Journal of Food Technology**, v. 10, p. 29-38, 1975.
- RUFINO, M. S. M. Metodologia Científica: Determinação da Atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical ABTS+. **Comunicado Técnico** (Embrapa Agroindústria Tropical), 2007.
- SAHLIN, E., SAVAGE, G. P., LISTER, C. E. Investigation of the antioxidant properties of tomatoes after processing. **Journal Food Composition and Analysis**, v. 17, p. 635-647, 2004.
- SAMPEDRO, F.; RODRIGO, D.; HENDRICKX, M. Inactivation kinetics of pectin methyl esterase under combined thermal-high pressure treatments in na orange-milk beverage. **Journal of Food Engineering**, v. 86, p. 133-139, 2008.
- SÁNCHEZ-MORENO, C.; PLAZA, L.; DE ANCOS, B.; CANO, M. P. Quantitative bioactive compounds assessment and their relative contribution to the antioxidant capacity of commercial oranges juices. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, p. 430-439, 2003.
- SANTANA, F. A.; OLIVEIRA, L. A. de; VIANA, E. de S.; AMORIM, T. da S.; PASSOS, O. S.; SOARES FILHO, W. dos S. **Caracterização físico-química de variedades de tangerina do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**. In: JORNADA CIENTÍFICA EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA TROPICAL, 3., 2009, Cruz das Almas. Anais... Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br/publicacoes/jornada/resumos/Resumo_FernandaAS_LucianaAO_rev_JR_ED____.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2010.
- SANTOS, V. S.; MACHADO, A. R.; ARAUJO, P. F.; RODRIGUES, R. S. Estudo... In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 18.; ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 11.; MOSTRA CIENTÍFICA, 1., 2009, Pelotas. Resumos. Disponível em:<http://www.ufpel.tche.br/cic/2009/cd/pdf/CA/CA_00725.pdf>. Acesso em: 26 jan. 2010.
- SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defense (review). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, n. 7, p. 995-1014, 2005.

SECEX - **Secretária do Comércio Exterior do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior**. Disponível em: <http://alicesweb.mdic.gov.br>. Acesso em: 4 agosto 2008.

SENTANDREU, E.; CARBONELL, L.; CARBONELL, J. V.; IZQUIERDO, L. Effects of heat treatment conditions on fresh taste and on pectinmethylesterase activity of chilled mandarin and orange juices. **Food Science and Technology International**, London, v. 11, n. 3, p. 217-222, 2005.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics sources, chemistry, effects, applications**. Lancaster, Pennsylvania. Technomic Publishing Company Co. 1995. 331 p.

SILVA, J.A., **Tópicos da Tecnologia de Alimentos**, São Paulo: Livraria Varela, 2000. 227p.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdenicphosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, p. 144-168, 1965.

SLUIS, A. A. V. D.; DEKKER, M.; JAGER, A.; JONGEN, W. M. F. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p. 3606-3613, 2001.

SNODDERLY, D. M. Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins. **American Journal of Clinical Nutrition**, vol 62, p. 1448-1461, 1995.

SOBRATTEE, M. A.; NEERGHEEN, V. S.; LUXIMON-RAMMA, A. e ARUOMA, O. I., BAHORUN, T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. **Mutation Research**, v. 579, p. 200-213, 2005.

STAT SOFT, (2004). **STATISTICA**. (data analysis software system), version 7. www.statsoft.com.

SUBAGIO, A.; MORITA, N. Instability of carotenoids is a reason for their promotion on lipid oxidation. **Food Research International**, v. 34, p. 183-188, 2001.

SUGAI, A. Y.; SHIGEOKA, S. D.; BADOLATO, G. G.; TADINI, C. C. Análise físico-química e microbiológica do suco de laranja minimamente processado armazenado em lata de alumínio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 3, p. 233-238, 2002.

SUGAI, A. Y. **Processamento contínuo de pure de manga (*Mangifera indica* Linn.), VARIEDADE PALMER**. São Paulo, 2007, 83p. Tese (Doutorado), Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo (USP).

TABART, J.; KEVERS, C.; PINCEMAIL, J.; DEFRAIGNE, J.; DOMMES, J. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. **Food Chemistry**, v. 113, p. 1226-1233, 2009.

Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA-UNICAMP.- Versão II. -- 2. ed. -- Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, 2006. 113p.

TOOR, R. K.; SAVAGE, G. P. Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. **Food Research International**, v. 38, p. 487-494, 2005.

TORRES, E. F.; BAYARRI, S.; SAMPEDRO, F.; MARTÍNEZ, A.; CARBONELL, J. V. Improvement of the fresh taste intensity of processed Clementine juice by separate pasteurization of its serum and pulp. **Food Science and Technology International**, London, v. 14, n. 6, p. 525-529, 2008.

TOURNAS, V.; STACK, M. E.; MISLIVEC, P. H.; KOCH, H. A.; BANDLER, R. Yeasts, molds and mycotoxins. In: CENTER FOR FOOD SAFETY AND APPLIED NUTRITION (U.S.). **Bacteriological analytical manual online**. 2001. Chap.18. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-18.html>>. Acesso em: 15 set. 2008.

UDDIN, M. S.; HAWLADER, M.N.A.; DING, L.; MUJUMDAR, A. S. Degradation of ascorbic acid in dried guava during storage. **Journal of Food Engineering**, v. 51, p. 21-26, 2002.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 388-394, 2007.

VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radical, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, v. 160, p. 1-40, 2006.

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

XU, G.; LIU, D.; CHEN, J.; YE, X.; MA, Y.; SHI, J. Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. **Food Chemistry**, v. 106, p. 545-551, 2008.

ZULUETA, A.; ESTEVE, M. J.; FRÍGOLA, A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. **Food Chemistry**, in press, 2008.

YOUNG, A. J.; LOWE, G. M. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 385, p. 20-17, 2001.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 701-705, 1996.

WANG, Y.; CHUENG, Y.; KU, Y. Quantitation of bioactive compounds in fruits cultivated in Taiwan. **Food Chemistry**, London, v. 102, p. 1163-1171, 2007.

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

ANEXOS

Anexo A – Tabelas de análise de variância

Anexo B – Tabelas dos coeficientes de regressão para as variáveis significativas

Anexo C – Cromatogramas característicos da análise da composição e do perfil dos carotenóides

Anexo D – Espectros na região do UV-vis. obtidos na fase móvel dos respectivos carotenóides identificados no suco da tangerina murcote

Anexo E – Cromatograma característico da análise de açúcares

Anexo A – Tabelas de análise de variância

Tabela A1. Análise de variância para a **variável sólidos totais** referente às diferentes condições de processamento térmico estabelecidas no planejamento experimental

	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F	Valor p
(1)Temperatura(L)	0,050474	1	0,050474	0,392906	0,558280
Temperatura(Q)	0,264072	1	0,264072	2,055636	0,211096
(2)Tempo (L)	0,166982	1	0,166982	1,299855	0,305892
Tempo (Q)	0,394588	1	0,394588	3,071628	0,140051
1L by 2L	0,019600	1	0,019600	0,152574	0,712175
Erro Puro	0,642311	5	0,128462		
Total Soma dos Quadrados	1,384691	10			

ANOVA; Var.:ST; R-sqr=,53613; Adj:,07227 (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet3) in Workbook1) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=,1284622 DV: Sólidos Totais

Tabela A2. Análise de variância para a variável sólidos solúveis (°Brix) referente às diferentes condições de processamento térmico estabelecidas no planejamento experimental

	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F	Valor p
(1)Temperatura(L)	0,299297	1	0,299297	1,763219	0,241612
Temperatura(Q)	0,685300	1	0,685300	4,037237	0,100738
(2)Tempo (L)	0,042182	1	0,042182	0,248505	0,639282
Tempo (Q)	0,332116	1	0,332116	1,956563	0,220750
1L by 2L	0,090000	1	0,090000	0,530208	0,499176
Erro Puro	0,848724	5	0,169745		
Total Soma dos quadrados	2,075855	10			

ANOVA; Var.:°Brix; R-sqr=,59114; Adj:,18229 (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet3) in Workbook1) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=,1697447 DV: °Brix

Tabela A3. Análise de variância para a variável pH referente às diferentes condições de processamento térmico estabelecidas no planejamento experimental

	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F	Valor p
(1)Temperatura(L)	0,002306	1	0,002306	0,109759	0,753853
Temperatura(Q)	0,088507	1	0,088507	4,212886	0,095335
(2)Tempo (L)	0,001263	1	0,001263	0,060101	0,816081
Tempo (Q)	0,085007	1	0,085007	4,046332	0,100447
1L by 2L	0,000025	1	0,000025	0,001190	0,973816
Erro Puro	0,105043	5	0,021009		
Total Soma dos quadrados	0,240564	10			

ANOVA; Var.:pH; R-sqr=,56335; Adj:,1267 (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet3) in fisico-quimicos) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=,0210085 DV: pH

Tabela A4. Análise de variância para a variável acidez titulável referente às diferentes condições de processamento térmico estabelecidas no planejamento experimental

	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F	Valor p
(1)Temperatura(L)	0,002144	1	0,002144	2,93347	0,147436
Temperatura(Q)	0,015379	1	0,015379	21,04010	0,005910
(2)Tempo (L)	0,000291	1	0,000291	0,39801	0,555830
Tempo (Q)	0,013767	1	0,013767	18,83593	0,007429
1L by 2L	0,000100	1	0,000100	0,13681	0,726618
Erro Puro	0,003655	5	0,000731		
Total Soma dos quadrados	0,028364	10			

ANOVA; Var.:Acidez (%); R-sqr=,87115; Adj:,74231 (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet3) in fisico-quimicos) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=,0007309 DV: Acidez (%)

Tabela A5. Análise de variância para a variável carotenóides totais referente às diferentes condições de processamento térmico estabelecidas no planejamento experimental

	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F	Valor p
(1)Temperatura(L)	11803,6	1	11803,6	0,536584	0,496731
Temperatura(Q)	104452,7	1	104452,7	4,748355	0,081208
(2)Tempo (L)	8294,2	1	8294,2	0,377047	0,566048
Tempo (Q)	6154,6	1	6154,6	0,279787	0,619472
1L by 2L	203,1	1	203,1	0,009231	0,927190
Erro Puro	109988,3	5	21997,7		
Total Soma dos quadrados	270867,0	10			

ANOVA; Var.:Totais; R-sqr=,59394; Adj:,18788 (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet1) in Workbook1) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=21997,66 DV: Totais

Tabela A6. Análise de variância para a variável luteína referente às diferentes condições de processamento térmico estabelecidas no planejamento experimental

	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F	Valor p
(1)Temperatura(L)	42,471	1	42,4706	0,077338	0,792071
Temperatura(Q)	40,956	1	40,9561	0,074580	0,795702
(2)Tempo (L)	404,490	1	404,4899	0,736568	0,429974
Tempo (Q)	0,532	1	0,5317	0,000968	0,976380
1L by 2L	105,063	1	105,0625	0,191317	0,680070
Erro Puro	2745,776	5	549,1552		
Total Soma dos quadrados	3347,136	10			

ANOVA; Var.:Luteína; R-sqr=,17966; Adj:0, (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet1) in Workbook1) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=549,1552 DV: Luteína

Tabela A7. Análise de variância para a variável zeaxantina referente às diferentes condições de processamento térmico estabelecidas no planejamento experimental

	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F	Valor p
(1)Temperatura(L)	76,500	1	76,5000	0,444758	0,534371
Temperatura(Q)	7,722	1	7,7219	0,044894	0,840565
(2)Tempo (L)	74,557	1	74,5568	0,433461	0,539398
Tempo (Q)	0,278	1	0,2778	0,001615	0,969499
1L by 2L	306,250	1	306,2500	1,780487	0,239630
Erro Puro	860,018	5	172,0035		
Total Soma dos quadrados	1325,182	10			

ANOVA; Var.:Zeaxantina; R-sqr=,35102; Adj:0, (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet1) in Workbook1) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=172,0035 DV: Zeaxantina

Tabela A8. Análise de variância para a variável β -criptoxantina referente às diferentes condições de processamento térmico estabelecidas no planejamento experimental

	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F	Valor p
(1)Temperatura(L)	2322,38	1	2322,382	0,359105	0,575120
Temperatura(Q)	329,81	1	329,815	0,050999	0,830275
(2)Tempo (L)	6621,34	1	6621,338	1,023843	0,358041
Tempo (Q)	356,84	1	356,843	0,055178	0,823603
1L by 2L	2997,56	1	2997,563	0,463507	0,526234
Erro Puro	32335,70	5	6467,141		
Total Soma dos quadrados	45279,73	10			

ANOVA; Var.:B-criptoxantina; R-sqr=,28587; Adj:0, (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet1) in Workbook1) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=6467,141 DV: B-criptoxantina

Tabela A9. Análise de variância para a variável β -caroteno referente às diferentes condições de processamento térmico estabelecidas no planejamento experimental

	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F	Valor p
(1)Temperatura(L)	2,3824	1	2,38235	0,026656	0,876702
Temperatura(Q)	75,3783	1	75,37830	0,843410	0,400556
(2)Tempo (L)	0,2475	1	0,24747	0,002769	0,960071
Tempo (Q)	77,8332	1	77,83319	0,870878	0,393550
1L by 2L	52,5625	1	52,56250	0,588123	0,477774
Erro Puro	446,8662	5	89,37324		
Total Soma dos quadrados	618,5455	10			

ANOVA; Var.:B-caroteno; R-sqr=,27755; Adj:0, (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet1) in Workbook1) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=89,37324 DV: B-caroteno

Tabela A10. Análise de variância para a variável compostos fenólicos totais referentes às diferentes condições de processamento térmico estabelecidas no planejamento experimental

	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F	Valor p
(1)Temperatura(L)	49,9489	1	49,94894	1,745659	0,243653
Temperatura(Q)	69,8835	1	69,88352	2,442350	0,178861
(2)Tempo (L)	0,6621	1	0,66208	0,023139	0,885043
Tempo (Q)	44,5074	1	44,50741	1,555484	0,267561
1L by 2L	8,0656	1	8,06560	0,281884	0,618197
Erro Puro	143,0662	5	28,61323		
Total Soma dos quadrados	289,6802	10			

ANOVA; Var.:Comp. Fenólicos; R-sqr=,50612; Adj:,01225 (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet1) in Workbook2) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=28,61323 DV: Comp. Fenólicos

Tabela A11. Análise de variância para a variável vitamina C referente às diferentes condições de processamento térmico estabelecidas no planejamento experimental

	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F	Valor p
(1)Temperatura(L)	58,7148	1	58,7148	3,799822	0,108766
Temperatura(Q)	106,6083	1	106,6083	6,899331	0,046721
(2)Tempo (L)	0,0015	1	0,0015	0,000095	0,992613
Tempo (Q)	17,7847	1	17,7847	1,150963	0,332374
1L by 2L	6,9960	1	6,9960	0,452759	0,530867
Erro Puro	77,2599	5	15,4520		
Total Soma dos quadrados	250,6075	10			

ANOVA; Var.:VitaC; R-sqr=,69171; Adj:,38342 (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet1) in Workbook2) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=15,45198 DV: Vitamina C

Tabela A12. Análise de variância para a variável capacidade antioxidante referente às diferentes condições de processamento térmico estabelecidas no planejamento experimental

	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F	Valor p
(1)Temperatura(L)	0,257694	1	0,257694	6,089076	0,056697
Temperatura(Q)	0,028736	1	0,028736	0,679006	0,447439
(2)Tempo (L)	0,053278	1	0,053278	1,258907	0,312830
Tempo (Q)	0,002374	1	0,002374	0,056098	0,822171
1L by 2L	0,070225	1	0,070225	1,659352	0,254080
Erro Puro	0,211604	5	0,042321		
Total Soma dos quadrados	0,621455	10			

ANOVA; Var.:Cap. Antioxidante; R-sqr=,6595; Adj:,31901 (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet1) in Workbook2) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=,0423207 DV: Cap. Antioxidante

Tabela A13. Análise de variância para a variável sacarose referente às diferentes condições de processamento térmico estabelecidas no planejamento experimental

	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F	Valor p
(1)Temperatura(L)	0,000028	1	0,000028	0,005263	0,944978
Temperatura(Q)	0,004011	1	0,004011	0,746809	0,426993
(2)Tempo (L)	0,001059	1	0,001059	0,197275	0,675493
Tempo (Q)	0,000360	1	0,000360	0,067060	0,805989
1L by 2L	0,001980	1	0,001980	0,368746	0,570207
Erro Puro	0,026851	5	0,005370		
Total Soma dos quadrados	0,033931	10			

ANOVA; Var.:sac; R-sqr=,20865; Adj:0, (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet3) in fisico-quimicos) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=,0053702 DV: sacarose

Tabela A14. Análise de variância para a variável glicose referente às diferentes condições de processamento térmico estabelecidas no planejamento experimental

	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F	Valor p
(1)Temperatura(L)	0,005139	1	0,005139	1,225648	0,318652
Temperatura(Q)	0,006996	1	0,006996	1,668559	0,252935
(2)Tempo (L)	0,000056	1	0,000056	0,013280	0,912740
Tempo (Q)	0,000485	1	0,000485	0,115588	0,747687
1L by 2L	0,001640	1	0,001640	0,391203	0,559103
Erro Puro	0,020964	5	0,004193		
Total Soma dos quadrados	0,034816	10			

ANOVA; Var.:glic; R-sqr=,39786; Adj:0, (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet3) in fisico-quimicos) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=,0041928 DV: glicose

Tabela A15. Análise de variância para a variável frutose referente às diferentes condições de processamento térmico estabelecidas no planejamento experimental

	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Quadrado Médio	F	Valor p
(1)Temperatura(L)	0,017235	1	0,017235	3,419916	0,123660
Temperatura(Q)	0,015812	1	0,015812	3,137610	0,136713
(2)Tempo (L)	0,004900	1	0,004900	0,972324	0,369383
Tempo (Q)	0,030452	1	0,030452	6,042560	0,057358
1L by 2L	0,000025	1	0,000025	0,004961	0,946580
Erro Puro	0,025198	5	0,005040		
Total Soma dos quadrados	0,083363	10			

ANOVA; Var.:frut; R-sqr=,69773; Adj:,39547 (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet3) in fisico-quimicos) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=,0050396 DV: frutose

Anexo B – Tabelas dos coeficientes de regressão para as variáveis significativas

Tabela B1. Coeficientes de regressão para o aumento da acidez

	Coeficiente de Regressão	Erro Padrão	t(5)	p	-95,%	+95,%
Média/Interseção	26,37213	5,829046	4,52426	0,006258	11,38809	41,35617
(1)Temperatura(L)	-0,55084	0,122215	-4,50714	0,006358	-0,86500	-0,23668
Temperatura(Q)	0,00297	0,000648	4,58695	0,005910	0,00131	0,00464
(2)Tempo (L)	-0,01798	0,032541	-0,55250	0,604392	-0,10163	0,06567
Tempo (Q)	0,00051	0,000116	4,34004	0,007429	0,00021	0,00081
1L by 2L	-0,00012	0,000338	-0,36988	0,726618	-0,00099	0,00074

Regr. Coefficients; Var.:Acidez (%); R-sqr=,87115; Adj:,74231 (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet3) in fisico-quimicos) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=,0007309 DV: Acidez (%)

Tabela B2. Coeficientes de regressão recalculados para os parâmetros que influenciam significativamente o aumento da acidez

	Coeficiente de Regressão	Erro Padrão	t(5)	p	-95,%	+95,%
Média/Interseção	18,78187	9,824867	1,91167	0,097518	-4,45025	42,01399
(1)Temperatura(L)	-0,39429	0,209232	-1,88446	0,101498	-0,88904	0,10047
Temperatura(Q)	0,00212	0,001113	1,90382	0,098650	-0,00051	0,00475
Tempo (Q)	0,00002	0,000029	0,67239	0,522902	-0,00005	0,00009

Regr. Coefficients; Var.:Acidez (%); R-sqr=,41008; Adj:,15726 (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet3) in fisico-quimicos) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=,0023903 DV: Acidez (%)

Tabela B3. Coeficientes de regressão para redução da vitamina C

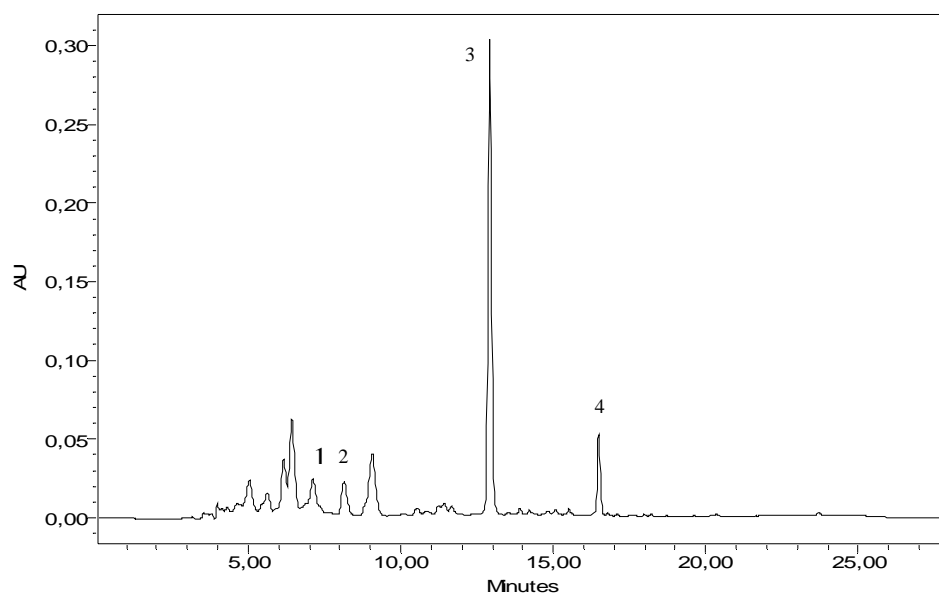
	Coeficiente de Regressão	Erro Padrão	t(5)	p	-95,%	+95,%
Média/Interseção	-1996,37	847,5315	-2,35551	0,065113	-4175,02	182,2770
(1)Temperatura(L)	44,86	17,7699	2,52434	0,052894	-0,82	90,5363
Temperatura(Q)	-0,25	0,0942	-2,62666	0,046721	-0,49	-0,0053
(2)Tempo (L)	-2,02	4,7313	-0,42614	0,687727	-14,18	10,1460
Tempo (Q)	-0,02	0,0169	-1,07283	0,332374	-0,06	0,0254
1L by 2L	0,03	0,0491	0,67287	0,530867	-0,09	0,1594

Regr. Coefficients; Var.:VitaC; R-sqr=,69171; Adj:,38342 (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet1) in Workbook2) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=15,45198 DV: VitaC

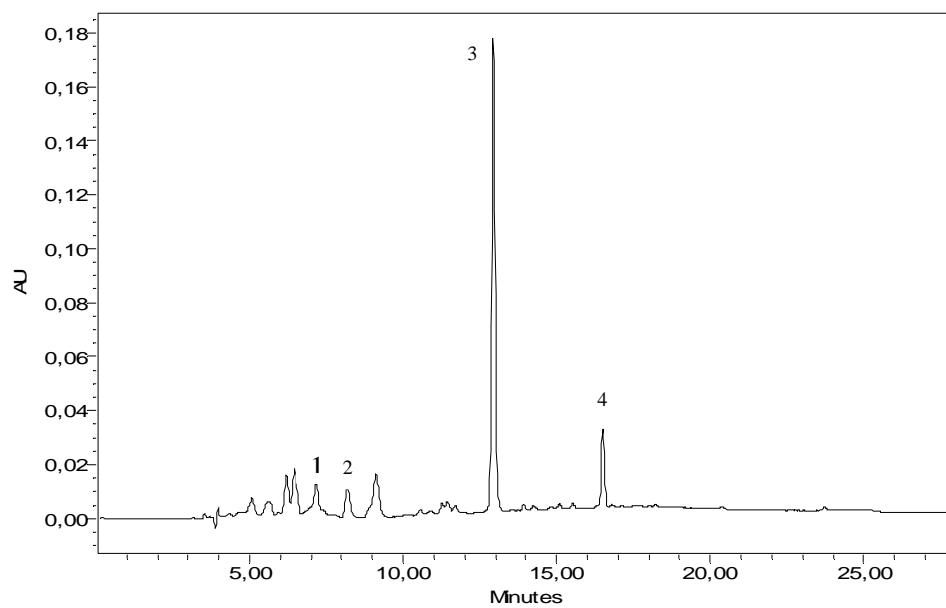
Tabela B4. Coeficientes de regressão recalculados para os parâmetros que influenciam significativamente a redução da vitamina C

	Coeficiente de Regressão	Erro Padrão	t(5)	p	-95,%	+95,%
Média/Interseção	78,12878	18,54083	4,21388	0,002260	36,18650	120,0711
Temperatura(Q)	-0,00358	0,00209	-1,71341	0,120787	-0,00831	0,0011
Regr. Coefficients; Var.:VitaC; R-sqr=,24596; Adj.,16218 (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet1) in Workbook2) 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=20,99635 DV: VitaC						

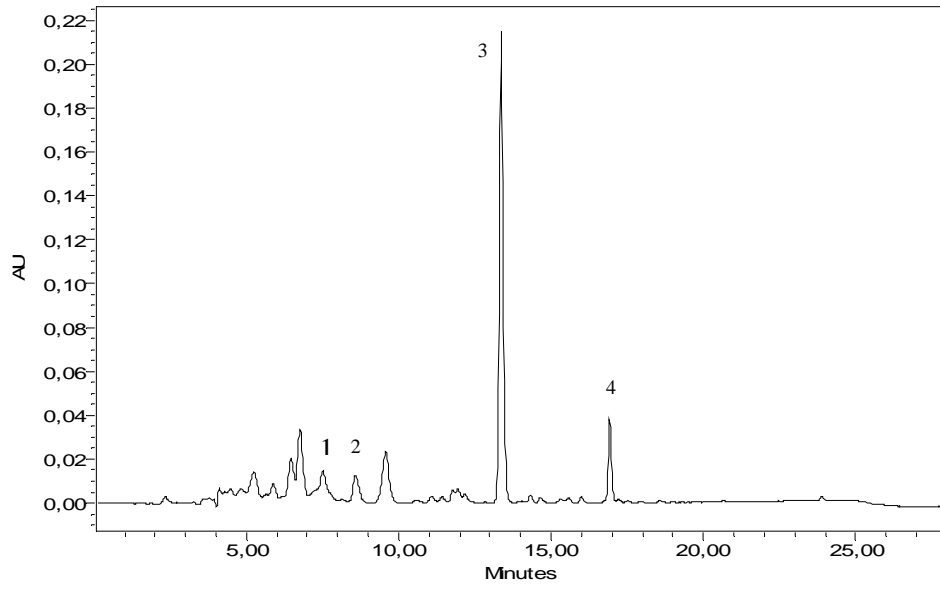
Anexo C – Cromatogramas característicos da análise da composição e perfil dos carotenóides



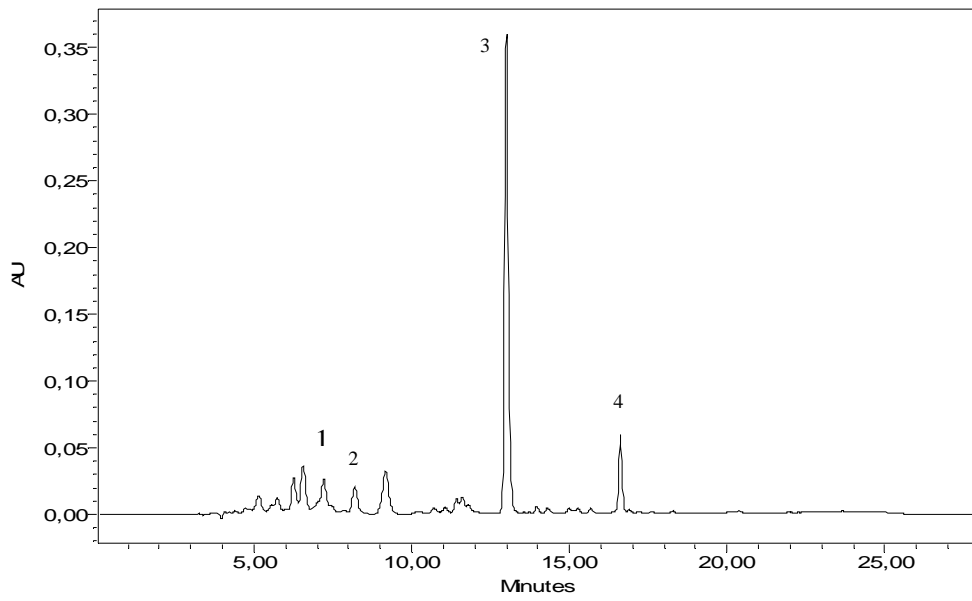
(a)



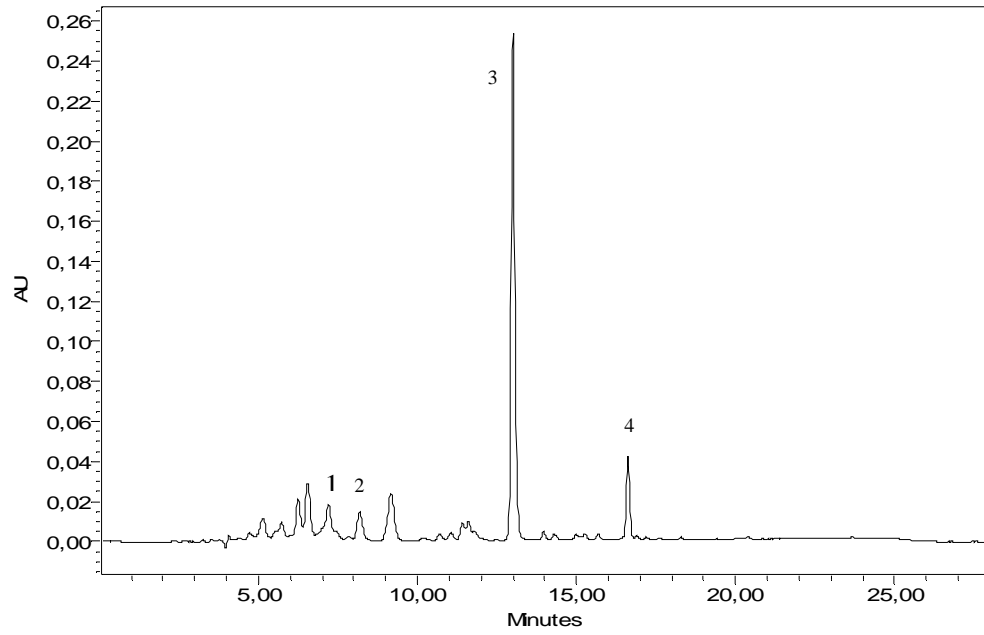
(b)



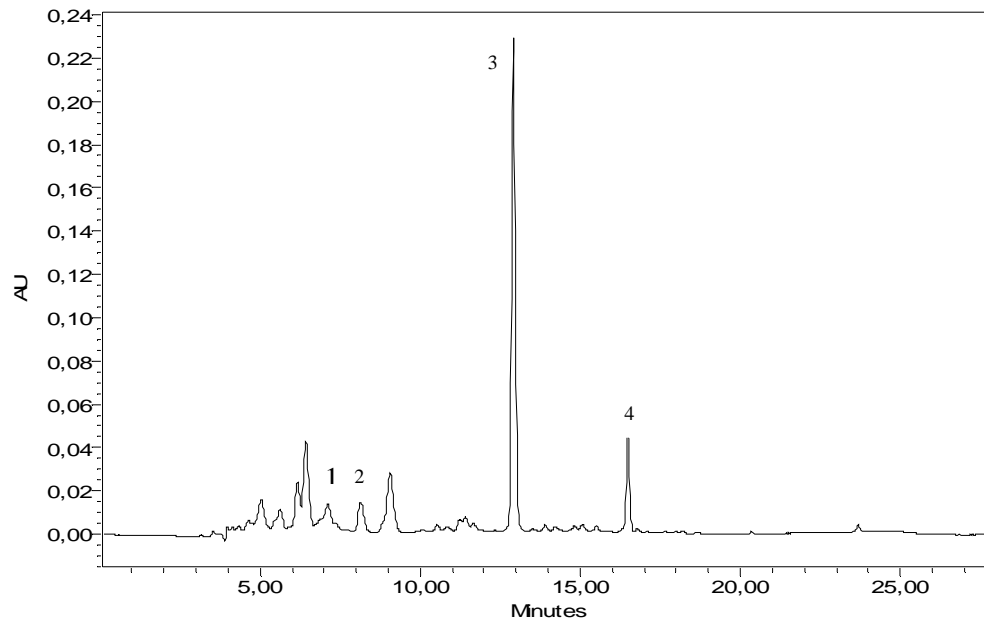
(c)



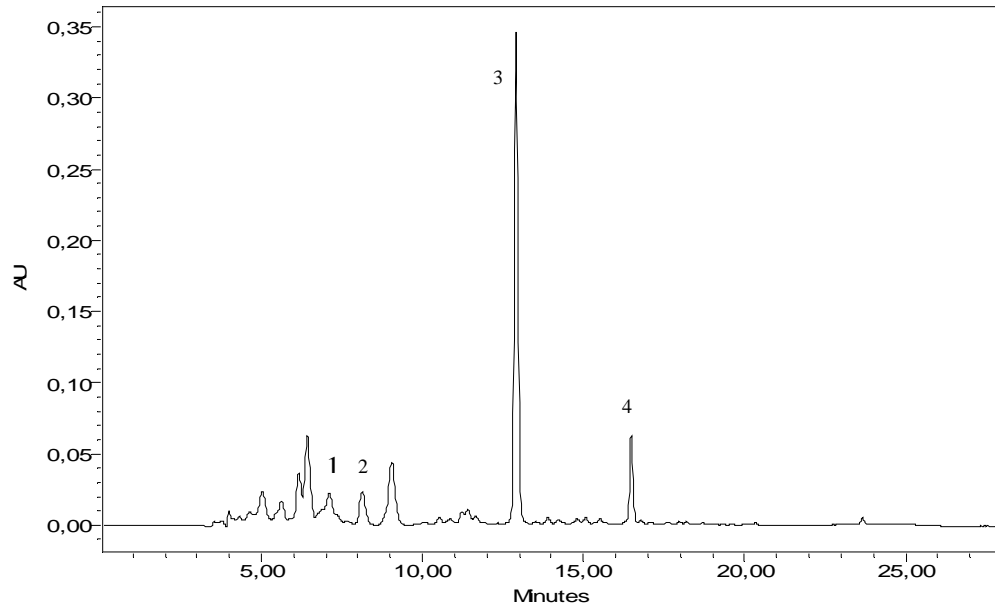
(d)



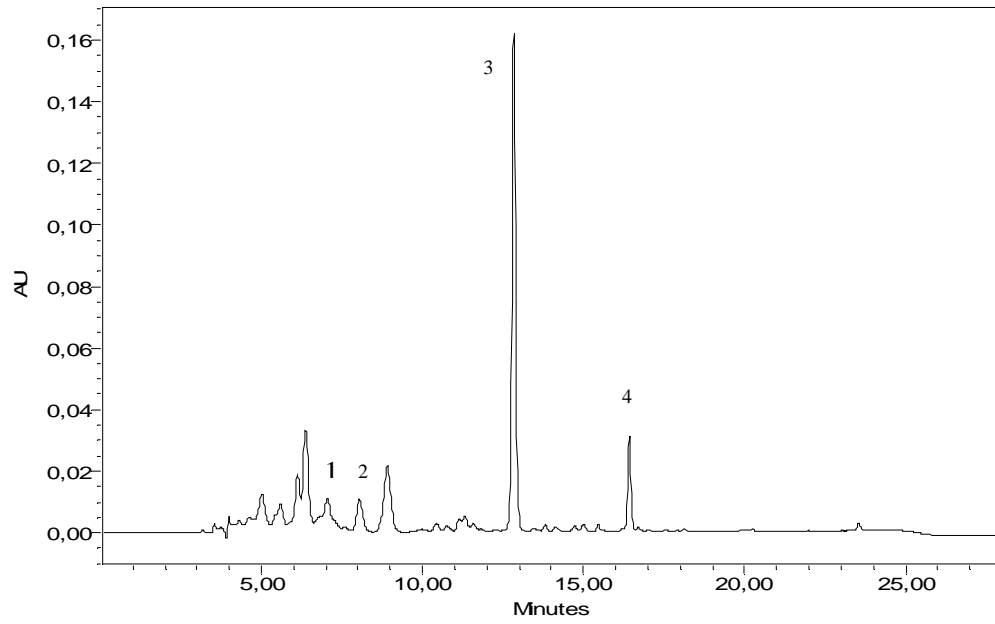
(e)



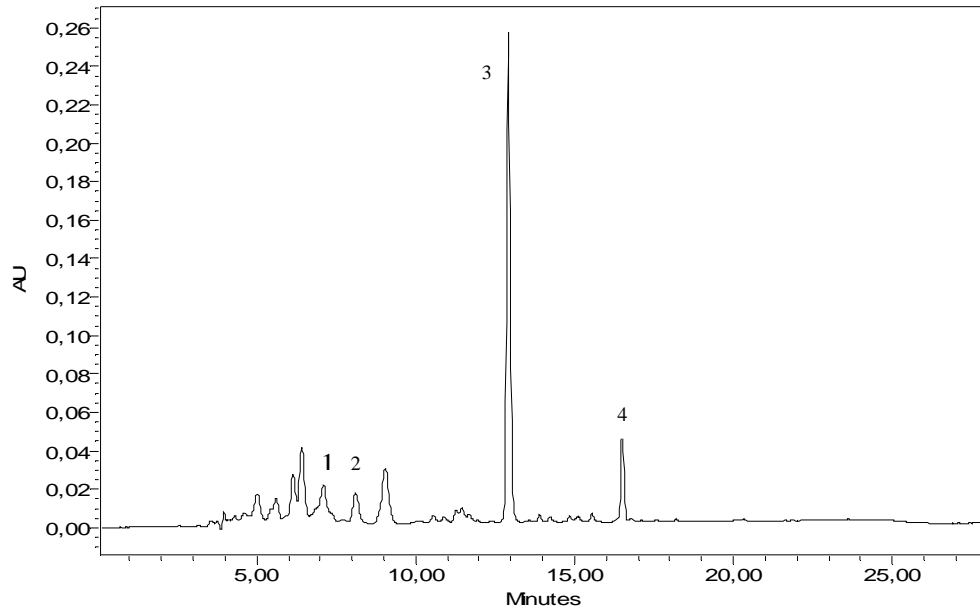
(f)



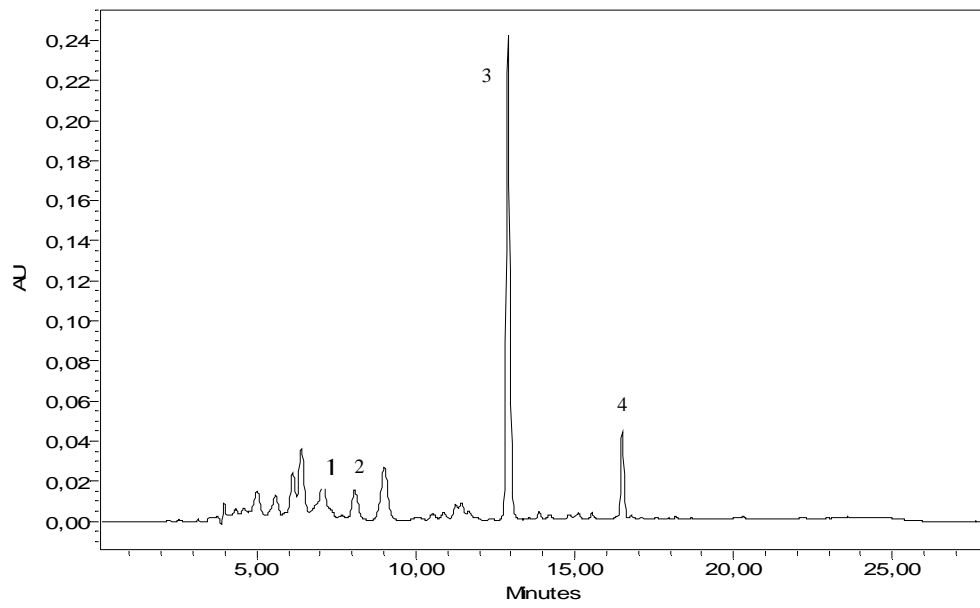
(g)



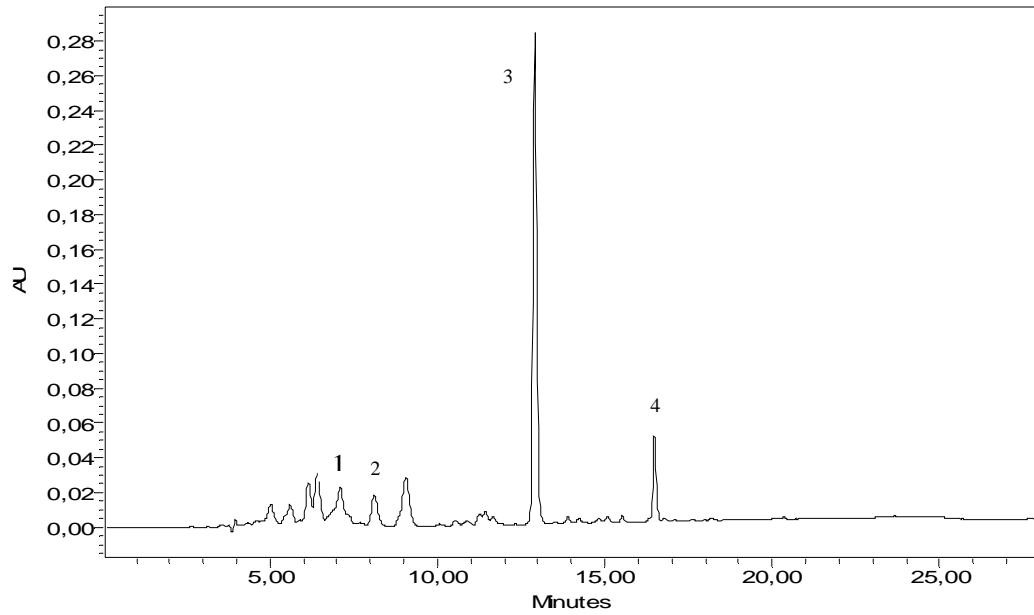
(h)



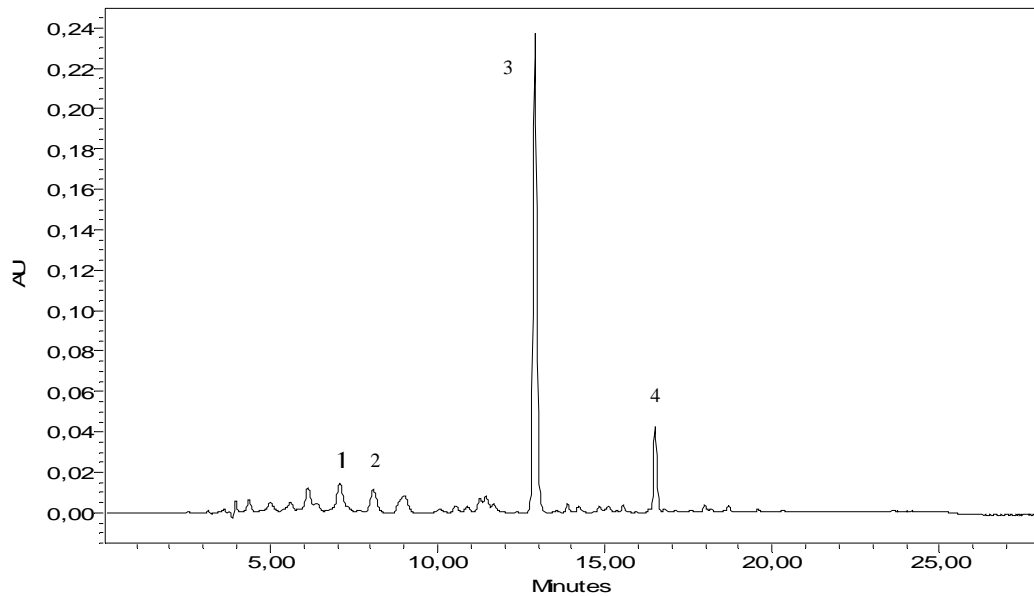
(i)



(j)



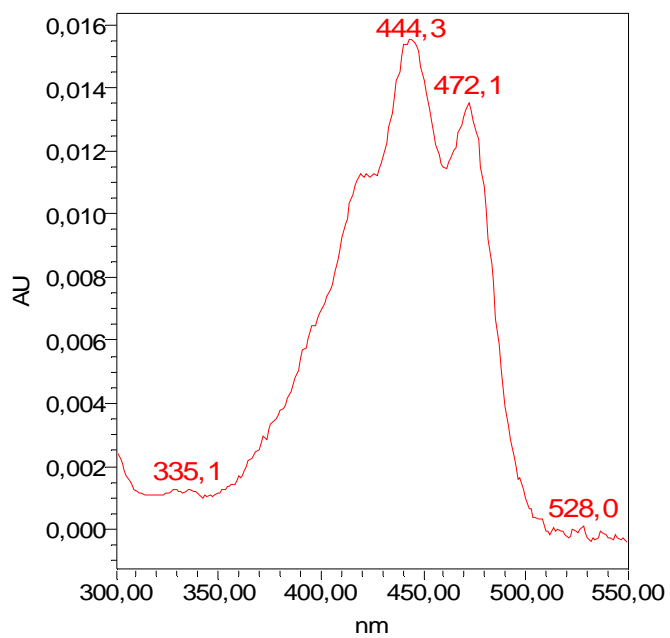
(l)



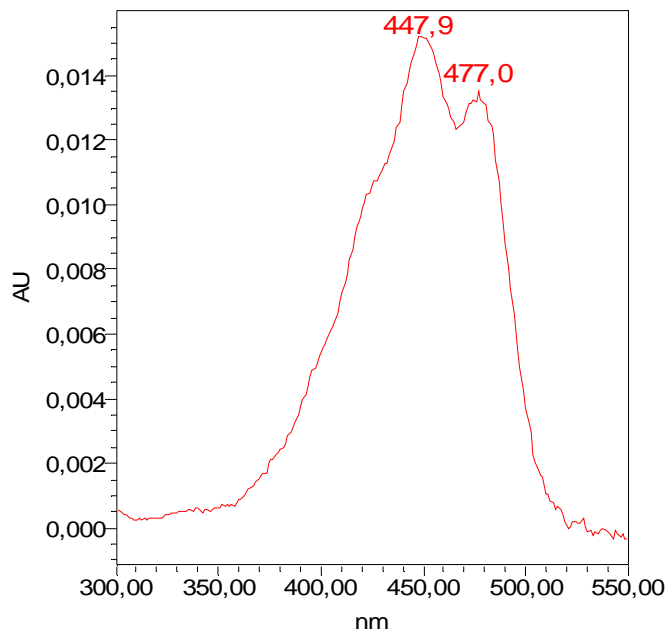
(m)

Figura C1. Perfil cromatográfico do suco de tangerina murcote *in natura* (a), pasteurizado a 90°C/20s (b), 90°C/40s (c), 98°C/20s (d), 98°C/40s (e), 94°C/30s I (f), 94°C/30s II (g), 94°C/30s III (h), 94°C/16s (i), 94°C/44s (j), 88°C/30s (l), 100°C/30s (m). 1- luteína, 2- zeaxantina, 3- β-criptoxantina, 4- β-caroteno.

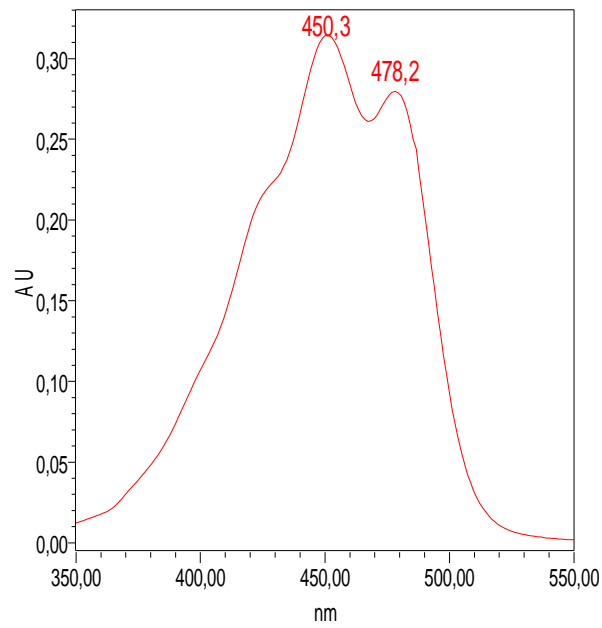
Anexo D – Espectros na região do UV-vis. obtidos na fase móvel dos respectivos carotenóides identificados no suco da tangerina murcote



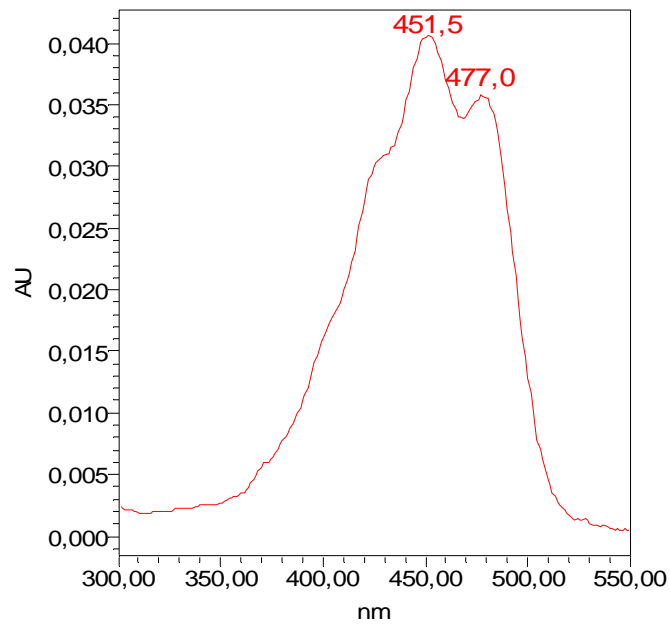
(a)



(b)



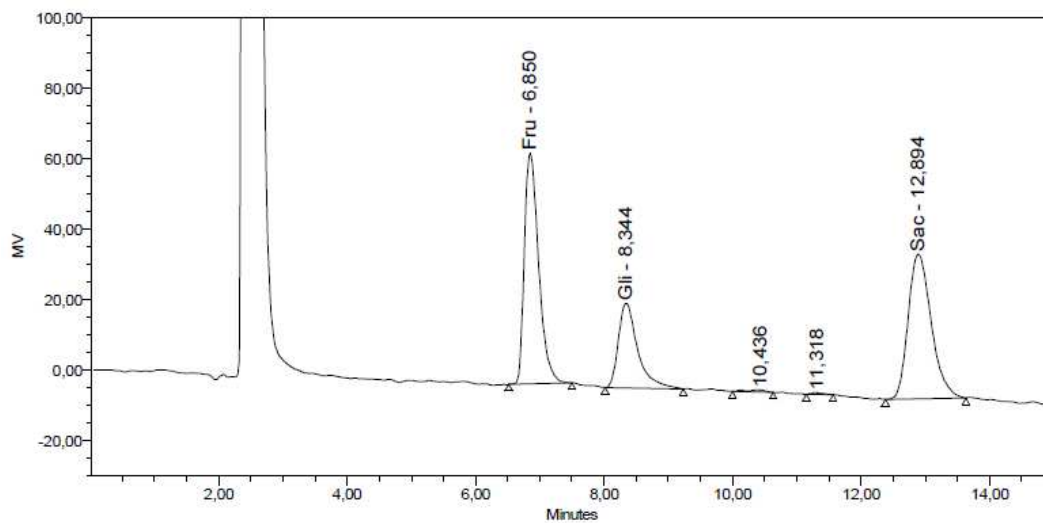
(c)



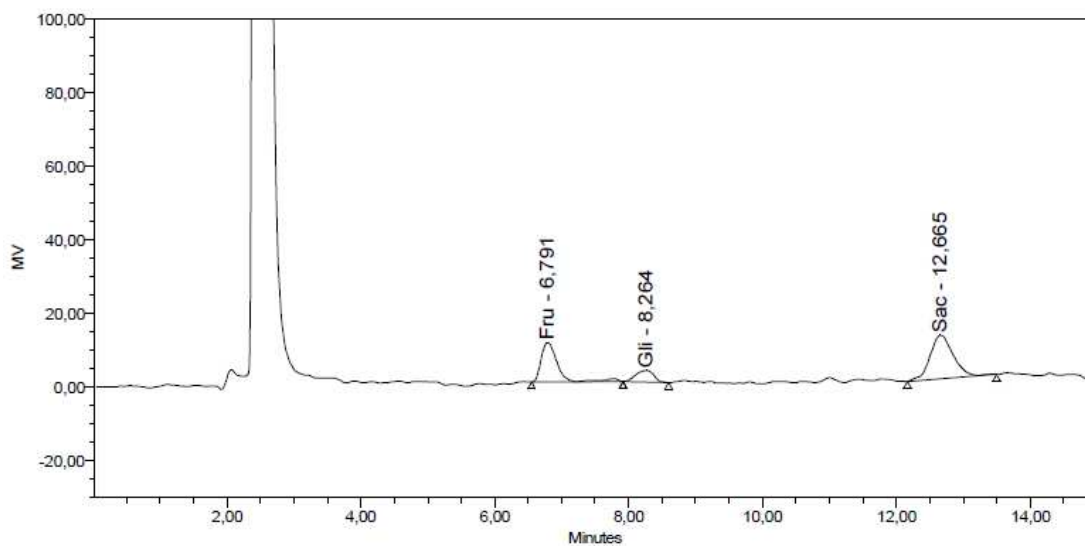
(d)

Figura D1. Espectros dos carotenóides luteína (a), zeaxantina (b), β -criptoxantina (c) e β -caroteno (d).

Anexo E – Cromatograma característico da análise de açúcares



(a)



(b)

Figura E1. Perfil cromatográfico da solução padrão de calibração dos açúcares (a) e da amostra de suco de tangerina murcote *in natura* (b).