UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

GUILHERME LORENCINI SCHUINA

UTILIZAÇÃO DE ULTRASSOM NA CONSERVAÇÃO DE SUCO DE LARANJA: EFEITO SOBRE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, ENZIMÁTICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS

ALEGRE - ES

FEVEREIRO – 2014

GUILHERME LORENCINI SCHUINA

UTILIZAÇÃO DE ULTRASSOM NA CONSERVAÇÃO DE SUCO DE LARANJA: EFEITO SOBRE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, ENZIMÁTICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Raquel Vieira de Carvalho

Coorientadora: Pollyanna Ibrahim Silva

ALEGRE - ES

FEVEREIRO – 2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Schuina, Guilherme Lorencini, 1990-

S385u Utilização de ultrassom na conservação de suco de laranja: efeito sobre características físico-químicas, enzimáticas, microbiológicas e sensoriais / Guilherme Lorencini Schuina. – 2014.

107 f. : il.

Orientador: Raquel Vieira de Carvalho.

Coorientador: Pollyanna Ibrahim Silva.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Bebidas. 2. Suco de laranja – conservação. 3. Alimentos - conservação. 4. Suco de frutas – qualidade. 5. Termossonicação. I. Carvalho, Raquel Vieira de. II. Silva, Pollyanna Ibrahim. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. IV. Título.

CDU: 664

UTILIZAÇÃO DE ULTRASSOM NA CONSERVAÇÃO DE SUCO DE LARANJA: EFEITO SOBRE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, ENZIMÁTICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS

Guilherme Lorencini Schuina

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovado em 24 de fevereiro de 2014

_____	_____
Profª. DSc. Suzana Maria Della Lucia	Prof. DSc. Anderson do Nascimento Oliveira
CCA/UFES	CCA/UFES
(Membro Interno)	(Membro Externo)

_____

Profª. DSc. Pollyanna Ibrahim Silva

CCA/UFES

(Coorientadora)

_____

Profª. DSc. Raquel Vieira de Carvalho

CCA/UFES

(Orientadora)

Dedico este trabalho a minha família, pelo apoio e dedicação sempre prestados em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por meio de quem alcançamos todos os momentos vividos, as amizades conquistadas e vitórias alcançadas ao longo deste período.

A meus familiares, principalmente a minha mãe Luiza; ao meu pai, Edmar e ao meu irmão, Guido, pelo amor, carinho e por todo apoio que me deram ao longo desta caminhada.

À Ingrid, pela força, compreensão e amor em todos os momentos.

A todos os amigos, sempre muito importantes durante esta trajetória.

À Professora Raquel Vieira de Carvalho, pela orientação, pelos ensinamentos transmitidos pela amizade e pela paciência ao longo de todas as dificuldades encontradas durante a realização deste trabalho.

Às Professoras Suzana Maria Della Lucia e Patrícia Campos Bernardes pela ajuda prestada nas análises sensoriais e microbiológicas respectivamente. E a professora Pollyanna Ibrahim Silva pela coorientação.

Aos professores do PCTA pelos ensinamentos passados.

À Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realizar este curso. À CAPES pela bolsa.

Ao Vinícius pelo grande auxilio na realização deste trabalho. À Luiza e Cíntia, pelo auxilio na execução das análises microbiológicas.

A todos os colegas IFF- Bom Jesus, em especial ao grupo da agroindústria, pelo apoio e compreensão.

E a todos que contribuíram de alguma forma para a realização desse trabalho.

Obrigado!

RESUMO

SCHUINA, Guilherme Lorencini. **Utilização de ultrassom na conservação de suco de laranja: efeito sobre características físico-químicas, enzimáticas, microbiológicas e sensoriais.** 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre - ES. Orientadora: Profª. Drª. Raquel Vieira de Carvalho. Coorientadora: Profª. Drª. Pollyanna Ibrahim Silva

O consumo de suco de frutas vem aumentando no Brasil. Entre 2002 e 2009 o consumo de sucos, sejam eles concentrados, em pó, sucos ou néctares, aumentou em 21%. Devido ao seu sabor agradável e doce, e ao seu valor nutricional, o suco de laranja é o suco mais comum fabricado pela indústria de processamento de bebidas. Diversos fatores podem afetar a qualidade do suco de laranja. A microbiota típica presente no suco de laranja pode ser proveniente de várias etapas de sua produção. Em relação às enzimas, a pectinametilesterase (PME) é a principal causadora de alterações em suco laranja. A pasteurização e a esterilização comercial são os métodos de conservação mais comuns utilizados para inativar enzimas e micro-organismos, porém podem causar efeitos adversos em relação às características sensoriais (cor, sabor, aroma, e outros) dos produtos. A tecnologia de ultrassom vem sendo estudada recentemente como uma forma de conservar os alimentos sem causar efeitos indesejáveis como os provocados pelos tratamentos térmicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização da tecnologia de ultrassom e de ultrassom aliado a temperaturas brandas, como forma de conservar suco de laranja. Para isto, foram analisadas a contagem de mesófilos totais e bolores e leveduras, a atividade da pectinametilesterase, o teor de vitamina C, a cor, o pH, o teor de sólidos solúveis e a estabilidade em relação à turbidez. Ainda, avaliou-se a aceitação sensorial de suco de laranja submetido à termossonicação. Os resultados foram comparados com os obtidos para o suco natural e o suco pasteurizado. Utilizou-se um ultrassom de 40 kHz, associado às temperaturas de 25 ºC, 30 ºC, 40 ºC, 50 ºC e 60 ºC durante 10 minutos. Os tratamentos utilizando ultrassom a 50 ºC e 60 ºC foram capazes de reduzir a contagem de bolores e leveduras e de mesófilos totais, apresentando uma redução de 3 ciclos logarítmicos. Resultado similar foi encontrado quando realizado o tratamento térmico a 90 ºC por 30 segundos.

Observou-se que a aplicação da termossonicação permitiu uma redução significativa na atividade de PME e uma menor perda de vitamina C. O tratamento que apresentou melhor redução na atividade de PME foi utilizando ultrassom 40 kHz com temperatura de 60 ºC. Em relação ao ácido ascórbico, quanto menor a temperatura utilizada em conjunto com a sonicação, menor foi a perda deste composto. O teor de sólidos solúveis, o pH e a cor do suco não foram alterados ao longo do processamento. Avaliando a aceitabilidade do suco, verificou-se que a cor não foi influenciada por nenhum tratamento. Em relação ao aroma, sabor e aceitação global o suco submetido a termossonicação obteve aceitação sensorial superior à encontrada para o suco pasteurizado. Concluiu-se então que a utilização da termossonicação como uma forma de conservação para suco de laranja é viável.

Palavras Chave: Termossonicação, conservação de suco, qualidade de suco

ABSTRACT

SCHUINA, Guilherme Lorencini. **Use of ultrasound to conserve orange juice: effect on chemical, microbiological and sensory characteristics.** 2014. Dissertation (Master's degree in Food Science and Technology) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre - ES. Adviser: Profª. Drª. Raquel Vieira de Carvalho. Co-Adviser: Profª. Drª. Pollyanna Ibrahim Silva

Consumption of fruit juice is increasing in Brazil. Between 2002 and 2009 the consumption of juice, whether concentrated, powder, juices and nectars, increased by 21 %. This occurs because of its pleasant taste and because the juice is considered to be healthy and a great source of vitamin C. Orange juice is the most common juice manufactured by beverage processing industry. Several factors may affect the quality of orange juice. Pectin methyl esterase (PME) is the main enzyme that cause changes in orange juice. Pasteurization and commercial sterilization are the most common preservation methods used to inactivate enzymes and microorganisms, but they can cause adverse effects in relation to the sensory characteristics (color, flavor) of the products. The ultrasound technology has recently been studied as a way to preserve food without causing adverse effects caused by heat treatments. The objective of this study is to evaluate the use of sonication and thermosonication, as a way to conserve orange juice. For this, it was measured the mesophilic and yeast count, the activity of pectin methyl esterase , the content of vitamin C , color , pH, soluble solids and the cloudy value. The sensory acceptance of orange juice subjected to thermosonication was also analyzed. The results obtained were compared with those obtained by natural juice and pasteurized juice. An ultrasound of 40 kHz , associated temperatures of 25 º C, 30 º C, 40 º C, 50 º C and 60 º C for 10 min . Treatments using ultrasound at 50 º C and 60 ° C were able to reduce the yeasts and mesophilic count in 3 log cycles. Same result was found when the heat treatment at 90 ° C for 30 seconds was used. It was observed that the application of thermosonication promotes a substantial reduction in the activity of pectin methyl esterase and has a minor loss of vitamin C. The treatment with better reduction in the activity of PME was the one of 40 kHz ultrasound with temperature of 60 º C. In relation to the ascorbic acid retention, the lower the temperature used in conjunction with sonication, the lower the loss of this compound was observed. The

content of soluble solids, pH and color of the juice has not changed throughout the process. When evaluating the acceptability of the juice, it was found that the color was not affected by any treatment. The aroma, flavor and overall acceptance of juice obtained by thermosonication had higher sensory scores in comparison with sensory scores of the pasteurized juice. The thermosonication treatment is considered a potential alternative method of food preservation.

Keywords: thermosonication, preservation of juice, quality of juice.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da pectina. 22
Figura 2 – Ação da pectinametilesterase. 24
Figura 3 – Tipos de ondas sonoras: (a) Longitudinal, (b) transversal.. 27
Figura 4 – Comprimento de onda, amplitude.. 28
Figura 5 – Contagem de mesófilos totais em função da temperatura utilizada em conjunto com tratamento de ultrassom.....54
Figura 6 – Contagem de bolores e leveduras em função da temperatura utilizada em conjunto com tratamento de ultrassom. 57
Figura 7 – Atividade residual de PME em função da temperatura utilizada em conjunto com tratamento de ultrassom. 74
Figura 8 – Teor de vitamina C em função da temperatura utilizada em conjunto com tratamento de ultrassom. 80
Figura 9 – Ficha utilizada no Teste Triangular.....96
Figura 10 – Ficha utilizada nos testes de aceitação da sessão. 97
Figura 11– Distribuição de frequência para aceitação da cor de suco de laranja 99
Figura 12 - Distribuição de frequência para aceitação do aroma de suco de laranja 101
Figura 13 - Distribuição de frequência para aceitação dos atributos sabor (a) e impressão global (b) em suco de laranja.....102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Codificação das amostras de suco de laranja e tratamentos ao qual foram submetidas.....52

Tabela 2 – Contagem de mesófilos totais e bolores e leveduras para suco de laranja in natura, tratados com ultrassom e pasteurizado.....55

Tabela 3 – Codificação das amostras e tratamentos.....70

Tabela 4 – Efeito dos tratamentos aplicados ao suco de laranja na Atividade Residual de PME e na estabilidade quanto à turbidez.....75

Tabela 5 – Efeito dos tratamentos aplicados ao suco de laranja no Teor de Sólidos Solúveis e pH. 78

Tabela 6 **–** Efeito dos tratamentos na cor do suco de laranja. 79

Tabela 7 – Efeito dos tratamentos aplicados ao suco de laranja no Teor de Vitamina C.....80

Tabela 8 – Médias das notas hedônicas obtidas pela aceitação sensorial dos sucos. 99

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO....16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA....18
2.1. Laranja....18
2.2. Suco de laranja....19
2.2.1. Alterações microbiológicas no suco de laranja....20
2.2.2. Alterações enzimáticas....21
2.2.2.1. Pectina....22
2.2.2.2. Pectinametilesterase (PME)....23
2.2.3. Alterações físicas e químicas....24
2.3. conservação de sucos....25
2.4. Ondas sonoras....26
2.5. Ultrassom....28
2.6. Cavitação....30
2.6.1. Efeito da cavitação sobre micro-organismos e enzimas....31
2.7. Análise sensorial....33
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS....34
CAPÍTULO I - EFEITO DA SONICAÇÃO E DA TERMOSSONICAÇÃO SOBRE MESÓFILOS TOTAIS E BOLORES E LEVEDURAS EM SUCO DE LARANJA....47
1. INTRODUÇÃO....50
2. MATERIAL E MÉTODOS....51
2.1. Mesófilos totais....53
2.2. Bolores e Leveduras....53
2.3. Análise estatística....53
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO....54

4. CONCLUSÃO 59

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 59

CAPÍTULO II - EFEITO DA TERMOSSONICAÇÃO nA ATIVIDADE DA PECTINAMETILESTERASE E EM ALGUMAS CARACTERISTICAS DE QUALIDADE DE SUCO DE LARANJA 65

1. INTRODUÇÃO 68

2. MATERIAL E MÉTODOS 69

2.1. Preparo da amostra 69

2.2. Aplicação dos tratamentos 69

2.3. Atividade de pectinametilesterase (PME) 70

2.4. Teor de sólidos solúveis 71

2.5. pH 71

2.6. Vitamina C 71

2.7. Cor 72

2.8. Estabilidade quanto a turbidez 72

2.9. Análise estatística 73

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 73

3.1. Atividade da pectinametilesterase 73

3.2. Estabilidade quanto a turbidez 77

3.3. Teor de sólidos solúveis, pH e cor 77

3.4. VitamIna C 79

4. CONCLUSÃO 82

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 83

CAPÍTULO III - ANÁLISE SENSORIAL DE SUCO DE LARANJA SUBMETIDO À TERMOSSONICAÇÃO 89

1. INTRODUÇÃO 93

2. MATERIAL E MÉTODOS 95

2.1. Preparo da amostra 95

2.2. Aplicação dos tratamentos 95
2.3. Análise sensorial 95
2.3.1. Teste triangular 96
2.3.2. Teste de Aceitação 96
2.4. Análise estatística 97
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 98
4. CONCLUSÃO 103
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 104

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é, mundialmente, um dos principais países produtores de laranja. O cultivo do fruto está presente em todos os estados brasileiros, sendo a laranja a fruta mais plantada do país (OLIVEIRA et al., 2006). Cerca de 70% das laranjas produzidas são destinadas à produção de suco (CITRUSBR, 2014).

O suco de laranja é amplamente consumido em todo o mundo devido ao seu sabor agradável e seu custo relativamente baixo (ÖZKAN, AYSEGÜL e CEMEROGLU, 2004; SELLI, CABAROGLU e CANBAS, 2004; CINQUANTA et al., 2010). Juntamente a isso, o consumo de suco de laranja é alavancado pelo fato do suco ser um alimento saudável e rico em vitamina C (DELLA TORRE et al., 2003; FALVELA, 2004; SILVA et al., 2005; SILVA et al., 2007).

O consumo de suco de frutas vem aumentando no Brasil. O Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE) reporta que entre 2002 e 2009 o consumo de sucos aumentou em 21% (SEBRAE, 2013).

O mercado interno de suco de laranja industrializado no Brasil está voltado basicamente para o comércio do suco de laranja pasteurizado, visto que o suco concentrado e congelado e o reconstituído são rejeitados pelo consumidor brasileiro por já estar habituado ao suco fresco, que possui melhores características de sabor e aroma (DE LIMA, MÉLO e LIMA 2000; TRIBESS, 2003).

O suco de laranja natural é um produto muito suscetível a alterações, por isso faz-se necessária a utilização de algum método de conservação para evitá-las. A pasteurização é um método geralmente utilizado para inativar certas enzimas, causadoras dessas alterações (WILINSKA et al. 2008; WANG, HU e WANG, 2010; DUBROVIC et al., 2011). Para tal processamento são necessárias condições severas de temperatura para propiciar a conservação do suco de laranja (POLYDERA et al., 2004), o que causa efeitos adversos em relação as características sensoriais (cor, sabor, aroma) e nutricionais dos produtos (OLIVA, 2002; DELLA TORRE, 2003; TEREFE et al., 2009; XU et al. 2011).

Neste contexto, surgem os métodos não térmicos de conservação de alimentos (ZHONG et al., 2004; GAYAN et al., 2012), dentre os quais, pode-se citar o uso de alta pressão, irradiação, campos elétricos pulsados de alta intensidade (CEPAI), pulsos luminosos, ultrassom entre outros (KNORR et al., 2004; CHANDRAPALAA et al., 2012a).

A utilização de ultrassom (US) para conservar alimentos é uma das tecnologias não térmicas considerada mais promissora (CONDÓN, RASO e PAGÁN, 2005), e segundo a US Food and Drug Administration, uma tecnologia em potencial para utilização (TIWARI et al., 2009). Segundo Crosby (1982) as vantagens da utilização do ultrassom sobre a pasteurização térmica incluem a minimização da perda de sabor, uma maior homogeneidade e economia significativa de energia.

O uso de US tem sido relatado com uma tecnologia promissora na área de ciência e tecnologia de alimentos. Knorr et al. (2004) revisaram o uso do US na melhoria do processamento direto de alimentos, tais como a extração de enzimas, proteínas e compostos antioxidantes, na inativação de micro-organismos e enzimas, limpeza de superfícies, entre outros. Chemat et al., (2011) e Chandrapala et al., (2012a) também relatam sobre o uso da tecnologia de ultrassom para processamento na indústria de alimentos.

Assim, o presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial de utilização da tecnologia de ultrassom e da termossonicação (ultrassom combinado com tratamento térmico) como técnica de conservação para suco de laranja. Os objetivos específicos foram:

- Avaliar o efeito da técnica na inativação da enzima pectinametilesterase em amostras de suco de laranja.
- Analisar o efeito dos tratamentos no teor de sólidos solúveis, na estabilidade quanto a turbidez, e nas características de cor, viscosidade, pH e teor de vitamina C em suco de laranja.
- Avaliar a utilização da sonicação e da termossonicação como forma de reduzir a população de mesófilos totais e bolores e leveduras em suco de laranja.
- Analisar sensorialmente o suco de laranja tratado por termossonicação.

- Comparar os efeitos do uso da tecnologia com os efeitos encontrados em suco pasteurizado.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. LARANJA

O Brasil ocupa a posição de maior produtor de frutas cítricas do mundo, dominando 27,2% da produção mundial. A produção brasileira de citros está concentrada no Estado de São Paulo, responsável por 77,43% da produção nacional de laranja (FAO, 2010).

O Brasil é o maior produtor de laranja do mundo, produzindo mais de 45.000 toneladas de laranja por ano. O cultivo da laranja está presente em todos os estados brasileiros, sendo a laranja a fruta mais plantada do país, com uma área total de cerca de 800 mil hectares. De toda a produção brasileira, vale ressaltar que cerca de 70% das laranjas produzidas são destinadas à produção de suco (CITRUSBR, 2014).

Segundo a ABECITRUS (2006), a produção de citros no Brasil teve o seu grande impulso a partir da década de 70, com o desenvolvimento da indústria de suco, principalmente em São Paulo. Um dos fatores que impulsionaram o desenvolvimento deste setor foi a demanda dos Estados Unidos por suco concentrado congelado de laranja, sendo o principal fator de crescimento da cadeia agroindustrial da laranja no Brasil (MAIA, 2008).

A laranja é uma planta originária do sul asiático, provavelmente da China (SILVA, 2011). Na idade média, a laranja foi levada pelos árabes para Europa, e por volta de 1500, na expedição de Cristóvão Colombo, mudas de frutas cítricas foram trazidas para o continente Americano.

Atualmente, a laranja é a principal fruta cítrica comercializada no mundo. Ela é composta por epicarpo (casca), mesocarpo (albedo), endocarpo (parte interna), columela (porção central branca) e sementes. Na casca estão presentes

carotenoides, responsável pela cor alaranjada, o limoleno e os óleos essenciais que proporcionam aroma e sabor característico ao fruto (QUEIROZ e MENEZES, 2005). O albedo possui flavanonas, pectina e fibras. O endocarpo é a fração que reveste os gomos do fruto (TETRA PAK, 1998) e as sementes possuem limonina, que contribui para o amargor do produto final (MACHADO, 2010).

2.2. SUCO DE LARANJA

De acordo com o decreto n° 6.871 de 2009 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), suco ou sumo é a bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, destinada ao consumo, obtida da fruta madura e sã, ou parte do vegetal de origem, por processamento tecnológico adequado, submetida a tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo (BRASIL, 2009).

Devido ao seu sabor agradável e doce, além do valor nutricional, suco de laranja é o suco mais comum fabricado pela indústria de processamento de bebidas (CINQUANTA et al., 2010). Silva et al. (2005) citam que o suco de laranja é considerado uma das melhores fontes de vitamina C, apresentando uma grande demanda por consumidores que buscam uma alimentação saudável.

Atualmente, o Brasil é o maior produtor mundial de suco de laranja, sendo ele um dos principais produtos de exportação do país. No período de janeiro a dezembro de 2013 a exportação brasileira de suco de laranja não concentrado ultrapassou 1.000.000 toneladas (CITRUSBR, 2014). De cada cinco copos de suco de laranja consumidos no mundo, três são produzidos no Brasil.

O Brasil detém 50% da produção mundial de suco de laranja, e exporta 98% do que produz, conseguindo 85% de participação no mercado mundial (NEVES et al., 2010). Apesar de ser o maior produtor mundial de suco, o Brasil é apenas o décimo país entre os maiores consumidores do mesmo (CITRUSBR, 2014).

O mercado interno de suco industrializado no Brasil está relacionado basicamente ao comércio do suco de laranja pasteurizado, visto que o suco de

laranja concentrado e congelado e o suco reconstituído são rejeitados pelo consumidor brasileiro o qual é habituado ao suco fresco, que possui melhores características sensoriais (TRIBESS, 2003). A facilidade de obtenção do suco de laranja “fresco” é um fator preponderante para expansão mais limitada do consumo do suco de laranja industrializado no país (DE LIMA, MÉLO e LIMA 2000).

O suco de laranja é um produto muito suscetível a alterações, por isso faz-se necessária a utilização de algum método de conservação para evitá-las. Dentre os fatores que podem afetar a qualidade do suco de laranja, estão os de origem microbiológica, química, física e enzimática.

2.2.1. Alterações microbiológicas no suco de laranja

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 (OLIVEIRA et al., 2006). A deterioração do suco de laranja, geralmente, limita-se aos micro-organismos tolerantes ao meio ácido, com predomínio de bactérias láticas, leveduras e fungos (CORREA NETO e FARIA, 1999; SILVEIRA e BERTAGNOLLI, 2012).

A degradação por leveduras é a causa mais comum de deterioração em suco; isto ocorre, pois estes micro-organismos conseguem tolerar a elevada acidez, e ainda fazem a assimilação de ácidos orgânicos, tais como o succinato, ácido lático e cítrico (DE PAULA et al., 2011). As leveduras contaminantes do suco podem ser aeróbicas ou anaeróbicas. As aeróbicas têm seu crescimento restrito à superfície do meio. A ocorrência delas pode propiciar a elevação do pH do suco, criando condições para o desenvolvimento de outros micro-organismos, como os patogênicos.

As leveduras anaeróbicas, por sua vez, são fermentativas e utilizam o carboidrato presente no suco, formando como principais produtos etanol e CO_2 (HOFFMANN et al., 2001). Dentre as bactérias, as ácido-láticas são as que se adaptam melhor ao ambiente característico do suco de laranja.

A legislação brasileira, pela RDC n° 12 de 02 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde, que estabelece critérios e padrões microbiológicos para alimentos, preconiza para sucos “in natura” limites na concentração de coliformes fecais e *Salmonella* (BRASIL, 2001). A Instrução Normativa n° 01 de 07 de janeiro de 2000, do MAPA regulamenta Padrões de Identidade e de Qualidade para polpa de fruta e estabelece limite de 5,0 x 10^3 UFC/g de suco integral, para bolores e leveduras, 1,0 UFC/g de coliformes termotolerantes e ausência de *Salmonella* em 25 g (BRASIL, 2000).

As condições higiênico-sanitárias de processamento comprometem a segurança microbiológica do suco de laranja. Apesar das condições inóspitas para micro-organismos patógenos, estudos relatam a presença de *Salmonella* (KRAUSE, TERZAGIAN e HAMMOND, 2001), *Shigella flexneri* (THURSTON et al., 1998) e *Escherichia coli* (RYU e BEUCHAT, 1998) associada ao suco de laranja.

2.2.2. Alterações enzimáticas

Dentre as possíveis alterações enzimáticas, a pectinametilesterase (PME) é a principal enzima causadora de alterações em suco laranja (BADOLATO, 2000). A degradação do suco pela PME está ligada a clarificação no suco (COLLET et al., 2005).

A PME causa a hidrólise da pectina, resultando em diminuição da estabilidade em relação a turbidez do suco e redução da viscosidade devido a degradação da cadeia de pectina (O’DONNELL et al., 2010). Além disso, seus efeitos estão associados ao amadurecimento de frutas (ASSIS et al., 2000), e à abscisão e senescência de frutos (REN e KERMONDE, 2000).

2.2.2.1. Pectina

A pectina é um polissacarídeo presente, principalmente na parede celular de vegetais, com uma importante função estrutural (YAPO, 2011). Sua obtenção comercial dá-se principalmente das cascas dos frutos cítricos e de maçã (PENNA, 2002).

As pectinas fazem parte de um grupo de substâncias de alto peso molecular denominadas substâncias pécticas, capazes de formar géis em meio ácido e na presença de açúcar. Incluem no grupo, o ácido péctico, ácido pectínico, e protopectina (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

A pectina é constituída de uma cadeia principal linear de unidades repetidas de ácido D-galacturônico ligados covalentemente por ligações α-(1,4), com grupos carboxílicos que podem ser metil esterificados em diferentes extensões (Figura 1) (KOBLITZ, 2010).

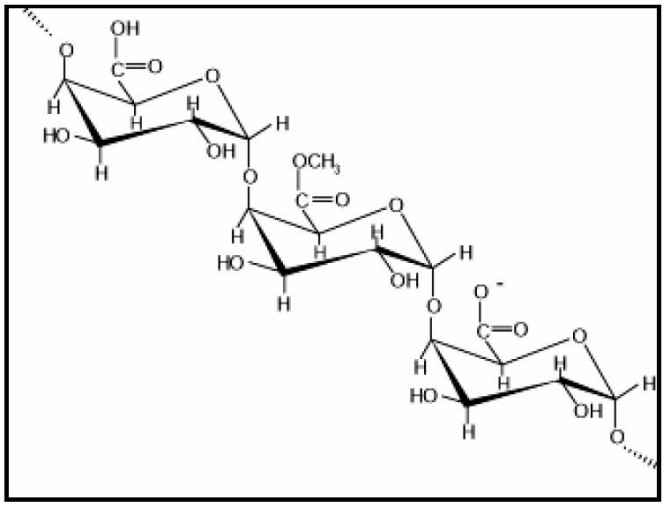


Figura 1 - Estrutura química da pectina. Fonte: Brandão e Andrade (1999).

As pectinas podem ser classificadas em pectinas com alto teor de metoxilação (ATM) ou baixo teor de metoxilação (BTM). As pectinas ATM (mais de 50 % dos grupos carboxílicos metoxilados) são geralmente denominadas apenas de pectina e tem capacidade de formar gel na presença de altas concentrações de

açúcares em meio ácidos. A pectina BTM, por sua vez, é importante por ter capacidade de geleificar apenas na presença de íons metálicos divalentes, como o Ca^{2+} (UENOJO e PASTORE, 2007).

As substâncias pécticas são substâncias que contêm uma cadeia de ácido galacturônico em sua composição. A protopectina é a forma natural em que são encontradas as pectinas, as quais geralmente se encontram associadas à celulose e à hemicelulose. A protopectina é insolúvel em água, mas facilmente decomposta por soluções ácidas, formando ácidos pectínicos ou pécticos. Os ácidos pectínicos são cadeias de ácido galacturônico que contêm número negligenciável de grupos metoxilados. Os ácidos pécticos, por sua vez, são grupos de substâncias formadas apenas por ácidos galacturônicos, livres de metoxilas (BRANDÃO e ANDRADE, 1999; PAIVA e LIMA, 2009; KOBLITZ, 2010).

No processo de conservação de sucos, a presença dos ácidos pécticos é indesejável, pois o ácido péctico é insolúvel e pode acabar propiciando a formação de precipitados. Devido a este motivo é necessária a inativação de enzimas pectinolíticas, como a pectinametilesterase, que é responsável pela hidrólise de pectina em ácido péctico (GAVA, SILVA e FRIAS, 2009).

2.2.2.2. Pectinametilesterase (PME)

As PMEs são enzimas originadas de plantas ou micro-organismos (JOLIE et al. 2009), de massa molar entre 25 kDa e 54 kDa (JOLIE et al., 2010). Catalisam reações de desmetilesterificação do ácido galacturônico presente na pectina, reduzindo seu peso (GIOVANE et al., 2004; FONTES et al., 2008).

As PME são enzimas do grupo das pectinases. Elas têm por característica catalisar a hidrólise dos grupos metil éster da pectina, liberando metanol e convertendo pectina em pectato (GUMMADI e PANDA, 2003) (Figura 2). Essa enzima catalisa a desmetilação do C^6 dos grupos carboxílicos dos resíduos de galacturosil, desesterificando-os (RESENDE et al., 2004).

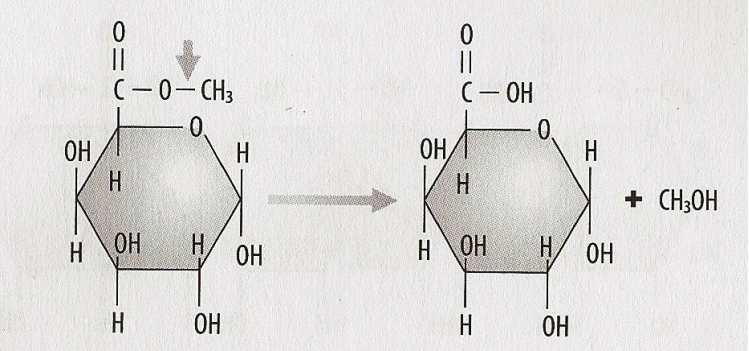


Figura 2 – Ação da pectinametilesterase. Fonte: Koblitz, (2010)

A esterificação do grupo metil torna o polissacarídeo suscetível à precipitação na presença de Ca^{2+}, pela formação de pectato de cálcio. Devido à presença de grupos carboxílicos ao longo do polímero, ocorrem ligações cruzadas mediadas pelo cálcio, provocando a precipitação e perda de turbidez do suco (CROAK e CORREDIG, 2005).

A perda da turbidez acaba gerando uma menor aceitação do consumidor pelo suco, grande problema para indústria. E essa perda de turbidez é, geralmente. atribuída à ação da pectinametilesterase no suco (CROAK e CORREDIG, 2005; TIWARI et al., 2009).

2.2.3. Alterações físicas e químicas

A perda da turbidez é a principal alteração física de importância para o suco de laranja. Os componentes que propiciam a turbidez do suco são uma mistura complexa que contém proteínas, pectina, lipídeos, hemicelulose, celulose e outros componentes. E a estabilidade da turbidez do suco é importante, pois afeta a cor, o sabor característico e a sensação bucal do suco de laranja (BAKER e CAMERON, 1999).

A perda da turbidez em sucos está constantemente associada à presença da PME. Cameron, Baker e Grohmann (1998) relataram que a clarificação do suco acontece devido a precipitação consequente de uma série de eventos iniciados pela PME.

Dentre as alterações químicas que ocorrem durante o processamento e estocagem do suco de laranja, pode ser evidenciada a alteração no teor de ácido ascórbico. O suco de laranja é considerado um alimento saudável, e grande parte disto se deve ao seu elevado teor de vitamina C (DANIELI et al., 2009). A vitamina C na forma reduzida é conhecida como ácido ascórbico. É um derivado de hexose sintetizado por vegetais e pela maioria dos animais (TEIXEIRA e MONTEIRO, 2006).

O homem não possui uma enzima necessária para a biossíntese da vitamina C ou do ascorbato, necessitando assim, da ingestão desta vitamina pela dieta alimentar. O ácido ascórbico está envolvido em várias funções metabólicas, como facilitar a absorção de alguns minerais e promover resistência a infecções (CHEN, SHAW e PARISH, 1993).

A vitamina C é um composto muito suscetível à deterioração, sendo a reação catalisada na presença de íons Cu^{2+} e Fe^{2+} e na presença de calor e luz (GREGORY, 2010).

A pasteurização é o método usualmente empregado para garantir a segurança microbiológica do suco de laranja. Embora este método agregue benefícios ao produto, principalmente em relação à redução na atividade enzimática e microbiológica, o método requer uso de altas temperaturas, em torno de 90 ºC geralmente, que acabam alterando o teor de vitamina C, o aroma e o sabor natural do suco “fresco” (DELLA TORRE et al., 2003).

2.3. CONSERVAÇÃO DE SUCOS

A pasteurização e a esterilização comercial são os métodos de conservação mais comuns utilizados para inativar enzimas e micro-organismos que podem alterar o alimento de maneira indesejada (WANG , HU e WANG, 2010). Esses métodos têm boa eficiência na inativação de micro-organismos e enzimas, mas por outro lado apresentam efeitos adversos em relação às características sensoriais (cor, sabor, aroma) e nutricionais dos produtos.

Aliado a isto, existe uma demanda crescente por parte dos consumidores por produtos alimentícios que apresentem características sensoriais e nutritivas mais próximas àquelas encontradas no alimento natural, ou seja, características do produto não processado (DEDE et al., 2007; LIMA FILHO et al., 2012).

Diante disto, é crescente a busca por métodos de conservação alternativos ao tratamento térmico, buscando a obtenção de produtos com características cada vez mais “naturais”. Nogueira (2010) relata que o desenvolvimento de novas tecnologias para a indústria de alimentos deve considerar que o processo seja seguro e que mantenha as propriedades nutricionais e sensoriais.

Neste contexto, surgem os métodos não térmicos de conservação de alimentos (ZHONG et al., 2004), dentre os quais, encontram-se os de uso de alta pressão, a irradiação, o uso de campos elétricos pulsados de alta intensidade (CEPAI), pulsos luminosos, campos magnéticos oscilantes, ultrassom, entre outros. Nogueira (2010) ressalta que embora a eficácia desses métodos já seja conhecida há algum tempo, somente agora estão ocorrendo os avanços tecnológicos para propiciar a sua exploração comercial.

Dentre as tecnologias citadas, a utilização de ultrassom é uma das tecnologias não térmicas consideradas mais promissoras, juntamente com a tecnologia de alta pressão e CEPAI (CONDÓN, RASO e PAGÁN, 2005). Crosby, (1982) citou que as vantagens da utilização do ultrassom sobre a pasteurização térmica incluem a minimização da perda de sabor, maior homogeneidade e economia significativa de energia.

2.4. ONDAS SONORAS

O som, assim como a luz, propaga-se como uma onda. As ondas sonoras são mecânicas e exigem um meio para se propagarem. A transmissão do som ocorre devido a movimentos ordenados e periódicos das moléculas no meio, cuja energia vai passando para moléculas adjacentes sem que haja transferência de massa (RESNICK, HALLIDAY e KRANE, 1996).

Uma onda pode se propagar de forma paralela ou perpendicular em direção a sua trajetória através do material, como ilustrado na Figura 3. Elas são descritas como ondas longitudinais e ondas transversas. O comportamento da onda se altera de acordo com as características do meio de propagação (PATIST e BATES, 2008). Fluidos como gases e líquidos, geralmente, não são capazes de transmitir tensões de cisalhamento, portanto as ondas sonoras que se propagam nesse meio são consideradas longitudinais, ou, ondas de compressão. Em sólidos, podemos ter também a propagação de ondas transversais (BARBETA e MARZZULLI, 2000).

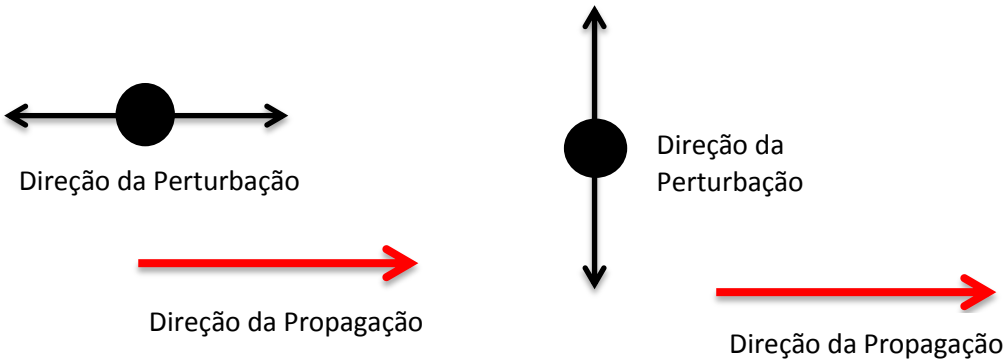


Figura 3 – Tipos de ondas sonoras: (a) Longitudinal, (b) transversal. (Baseado em TORLEY e BHANDARI, 2007).

Além disso, as ondas sonoras são caracterizadas pelo seu comprimento de onda (λ), frequência (f), amplitude (A), intensidade (I) e sua velocidade (c). O comprimento de onda é o espaço percorrido pela perturbação até o ponto em que a partícula passe a repetir o movimento (Figura 4). Ou seja, é a distância que corresponde a uma oscilação completa. A distância entre “A” e o ápice do movimento e o retorno ao ponto central é definida como a amplitude da onda, em que a amplitude da onda varia de – “A”, a + ”A” (TORLEY e BHANDARI, 2007).

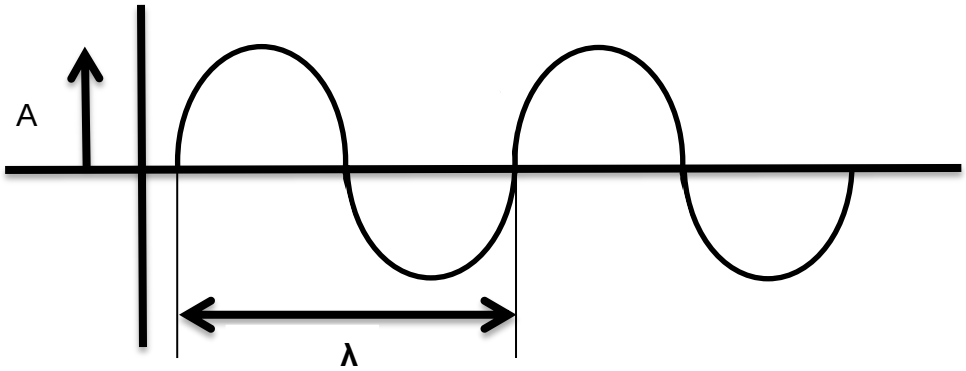


Figura 4 – Comprimento de onda, amplitude. (Baseado em: TORLEY e BHANDARI, 2007).

A frequência de uma onda é o número de oscilações por segundo, logo, a frequência é o número de ondas que passam por um determinado ponto em um intervalo de tempo. A intensidade do som, por sua vez, pode ser descrita como a quantidade de energia contida no movimento vibratório. A intensidade provoca uma maior ou menor amplitude na vibração ou na onda sonora (SOUZA, 2011).

Em relação à velocidade de propagação, as ondas sonoras propagam-se a uma velocidade constante, dependente do meio de propagação. A velocidade é função da frequência, do comprimento de onda e de características do meio. Em meios sólidos, a densidade e o módulo de Young (relacionado com a elasticidade do material) são fatores que afetam a velocidade de propagação da onda. Em meio gasoso, a velocidade de propagação está relacionada com a pressão, o calor específico do gás. Para meios líquidos por sua vez, a velocidade também está relacionada com a elasticidade e a densidade do meio (NUSSENZVEIG, 1990).

Os ultrassons são ondas acústicas, com frequência acima do limiar de audição humana (acima de 20 kHz). Essas ondas passam através de um material com velocidade característica da onda e do material em que está sendo propagado (SILVA, 2012).

2.5. ULTRASSOM

A frequência sonora percebida pelo homem é de 20 Hz até 20 kHz, enquanto a frequência de ultrassom vai de 20 kHz até 1,2 x 10^{10} kHz. Em relação a aplicação de ultrassom no processamento de alimentos, pode-se subdividi-lo ainda em ultrassom de baixa intensidade (menor que 1 W/cm^2) em alta frequência (maior que 1 MHz) e ultrassom de alta intensidade (maior que 5 W/cm^2) em baixa frequência (20 – 100 kHz).

Há algum tempo, somente utilizava-se o ultrassom (US) de alta frequência em alimentos, esse uso se dava, geralmente, por meio de realizações de análises não destrutivas do produto (MULET et al., 2002). Recentemente, o uso ultrassom de baixa frequência surgiu como tecnologia utilizada para conservação de alimentos (AZEREDO e BRITO, 2012)

Existe atualmente uma gama de aplicações da tecnologia de ultrassom para alimentos. Tem sido empregada na melhoria do processo de desidratação (OZUNA et al., 2011), na emulsificação (BEHREND e SCHUBERT, 2001), na filtração (MASKOOKI et al., 2010), na modificação da viscosidade (IIDA et al., 2008), no amaciamento (TARRANT, 1998), na fermentação (RESA, ALVIRA e ESPINOSA, 2009) na inativação de micro-organismos (BERMUDEZ-AGUIRRE et al., 2009) , na inativação de enzimas (JANG e MOON, 2011), entre outros (TIWARI et al., 2008a; TIWARI et al., 2008b; COMARELLA et al., 2012).

O uso de US tem sido relatado como uma tecnologia promissora na área de ciência e tecnologia de alimentos. Knorr et al. (2004) revisaram sobre o uso do US na melhoria do processamento direto de alimentos, tais como na extração de enzimas, proteínas e compostos antioxidantes, na inativação de micro-organismos e enzimas, limpeza de superfícies e outros. Chemat et al. (2011) e Chandrapala et al. (2012a) também relatam sobre o uso da tecnologia de ultrassom para processos alimentares.

Mais especificamente, em relação à inativação de micro-organismos e enzimas, ou seja, em relação ao efeito do ultrassom para conservação de alimentos, Chandrapala et al. (2012b) descreveram a utilização de US para segurança do alimento, ressaltando que este método pode preservar alimentos por meio da

inativação de micro-organismos e enzimas, e o mesmo vem sendo estudado, para substituição do tratamento térmico geralmente aplicado a esses produtos.

Para grande parte das aplicações industriais de ultrassom e, consequentemente, para inativação de micro-organismos e enzimas, a efetividade do ultrassom é causada devido ao fenômeno de cavitação que ocorre ao ser aplicado.

2.6. CAVITAÇÃO

No momento em que uma onda sonora é aplicada a líquidos, formam-se ciclos de compressão e expansão. Quando a pressão negativa criada no líquido pelo ciclo de expansão é baixa o suficiente para superar forças intermoleculares, pequenas bolhas são formadas (NASCENTES et al., 2001). Durante os subsequentes ciclos de expansão e contração, as bolhas de gás expandem-se e se contraem. Essa formação e evolução das bolhas é denominada de cavitação (MOHOLKAR, REKVELD, e WARMOESKERKEN, 2000; CONDÓN, RASO e PAGÁN, 2005).

Existem dois tipos principais de cavitação, a transiente e a estática. A cavitação estática é caracterizada por bolhas duradouras, que permanecem estáveis por muitos ciclos de compressão e expansão. A cavitação estática é produzida geralmente com ultrassom de baixa intensidade. A cavitação transiente ocorre quando a vibração aumenta o tamanho das bolhas progressivamente ao longo de vários ciclos de compressão e rarefação até chegar a um tamanho em que ela colapsa violentamente (STANGA, 2001; TORLEY e BHANDARI, 2007).

Neste processo criam-se regiões de alta pressão e alta temperatura no líquido em que se está aplicando o ultrassom (PIYASENA, MOHAREB e MCKELLAR, 2003). A cavitação transiente ocorre geralmente quando se aplica ultrassom de alta intensidade, e este fenômeno da formação e ruptura de bolhas é responsável pelo efeito na inativação de micro-organismos e enzimas (CHANDRAPALA et al., 2012b).

Além das reações mecânicas, a sonicação pode formar espécies químicas reativas. As condições de extremas temperaturas e pressões são capazes de criar radicais hidroxil com a molécula da água, e este radical pode reagir com outras substâncias químicas presentes no meio. O processo de formação de radicais a partir da molécula da água é denominado sonólise (KORN, ANDRADE e BORGES, 2003).

2.6.1. Efeito da cavitação sobre micro-organismos e enzimas

O principal efeito do US na inativação de micro-organismos e enzimas se dá pelas zonas de alta pressão e alta temperatura formadas ao longo do processamento, e também devido a formação de radicais livres (FELLOWS, 2000; BUTZ e TAUSCHER, 2002).

As bolhas formadas durante a cavitação têm uma maior área de superfície no ciclo de expansão, aumentando a difusão do gás na bolha, expandindo-a. A partir de determinado ponto, a energia ultrassônica fornecida não é suficiente para manter o vapor dentro da bolha, logo ocorre condensação rápida. As moléculas condensadas colidem com violência, criando uma onda de choque. Estas ondas atingem pressões de mais de 50.000 kPa e temperaturas de mais de 5500 ºC, formando as zonas de alta pressão e temperatura descritas acima (PIYASENA, MOHAREB e MCKELLAR, 2003).

A mudança de pressão que ocorre durante a cavitação causa um dano cavitacional direto à membrana da célula microbiana, sendo o principal efeito bactericida do tratamento com ultrassom (YUSAF, 2013). Este efeito cavitacional é denominado *microstreaming*, e leva a uma força de cisalhamento localizada significativa que atinge a parede celular dos micro-organismos e faz com que ela se rompa (CERRI et al., 2008; SAWANT et al., 2008). As zonas quentes não possuem tanto efeito por serem muito localizadas e não afetarem uma área grande o suficiente (PATIST e BATES, 2008; RAMPELOTTO, 2012).

Cada micro-organismo é afetado de uma maneira diferente pelo processo de sonicação. De uma forma geral, bactérias gram-positivas são menos sensíveis que as gram-negativas e micro-organismos em sua forma vegetativa são mais sensíveis do que em forma de esporo (PAGAN et al., 1999; DRAKOPOULOU et al., 2009).

A inativação enzimática é causada principalmente pela desnaturação da proteína, causada pela formação de radicais livres, pela sonólise da água ou ainda por forças de cisalhamento resultante da formação e colapso das bolhas (O'DONELL et al., 2010). A intensidade do ultrassom aplicado deve ser levada em conta, pois a atividade de enzimas livres pode aumentar sob sonicação leve (SAKAKIBARA et al., 1996).

O efeito do ultrassom para inativação de enzimas ainda é muito controverso. Alguns estudos mostram um efeito mais pronunciado desta tecnologia, e outros relatam que o efeito não foi tão aparente (KADKHODAEE e POVEY, 2008). Todavia, sabe-se que o ultrassom, utilizado de forma única não é capaz de inativar completamente enzimas, para isto iria requerer um tempo de aplicação excessivamente alto (TIWARI et al., 2009).

Exatamente por não ser tão eficiente muitas vezes na inativação de enzimas, vários estudos relatam o uso de termossonicação (ultrassom combinado com temperaturas amenas), manossonicação (ultrassom combinado com alta pressão) e manotermossonicação (ultrassom combinado com temperaturas amenas e alta pressão) (SALA et al., 1995; JIRANEK et al., 2008).

O uso de ultrassom aliado a outro método de conservação aumenta a eficácia na inativação de micro-organismos e enzimas. Vários estudos relatam o uso de termossoicação para inativação enzimática e de micro-organismos, muitos deles obtendo um efeito sinergístico ao utilizar essas tecnologias combinadas (RAVIYAN et al., 2005; TEREFE et al. 2009; GÓMEZ-LÓPEZ et al., 2010).

2.7. ANÁLISE SENSORIAL

Os testes sensoriais utilizam os sentidos humanos como “instrumentos” de medida. A avaliação sensorial deve fazer parte da garantia de qualidade do produto por determinar importantes aspectos sobre o mesmo, por exemplo, determinar a aceitação de um produto por parte dos consumidores (CARDELLO e CARDELLO, 1998).

Vários fatores podem influenciar as atitudes do consumidor perante um alimento, entre eles os sensoriais, como aparência, aroma, sabor, textura, e também características não sensoriais, e pela interação destas duas características (DELLA LUCIA et al., 2010).

Podem-se utilizar várias técnicas distintas para se realizar uma avaliação sensorial de um produto. Os métodos sensoriais tradicionais podem ser classificados em métodos descritivos, discriminativos e afetivos. Os testes descritivos buscam descrever quantitativamente e qualitativamente as características do produto (MEILGAARD, CIVILLE e CARR, 2006).

Os testes discriminativos (de diferença) são utilizados para avaliar percepção por parte dos consumidores de pequenas diferenças nos produtos, estas podendo ser algum atributo específico, ou então de forma global (FARIA e YOTSUYANAGI, 2002). Uma aplicação interessante dos testes discriminativos é no desenvolvimento de novos produtos ou processos, pelo qual é possível avaliar se o novo método, ou ingrediente utilizado proporcionou ou não diferenças sensoriais no produto.

Os testes Afetivos são utilizados para verificar o posicionamento do produto no mercado, otimizar um processo ou uma formulação, desenvolver produtos e ainda avaliar o potencial do mercado. Os testes afetivos são geralmente aplicados a população consumidora habitual ou potencial para o produto (REIS e MINIM, 2010).

No teste afetivo de aceitação, avalia-se o quanto os consumidores gostam ou desgostam de um ou mais produtos, utilizando para isso geralmente uma escala hedônica (STONE e SIDEL, 1993). Há poucos relatos na literatura reportando como

a sonicação e a termossonicação afetam a aceitação sensorial de sucos por parte do consumidor.

Ao se pasteurizar suco de laranja, é comprovada a redução na qualidade sensorial do suco, principalmente em relação aos atributos de sabor e aroma (DELLA TORRE et al., 2003). Conhecer os possíveis efeitos dos tratamentos como o ultrassom sobre a qualidade sensorial dos alimentos é muito importantes quando se avalia o seu potencial para a conservação de alimentos (CAMINITI et al., 2012)

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABECITRUS – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EXPORTADORES DE CITRICOS. Disponivel (2006) em: < http://www.mfrural.com.br/lista_rural_det.aspx?cod=1722&c

at=5&mnom=ABECITRUS-Associacao-Brasileira-Exportadores-de-Citricos>. Acesso em: 10/12/2013.

ASSIS, S. A.; LIMA, D. C.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Acerola´s pectin methyl esterase: studies of heat inactivation. **Food Chemistry,** v. 71, p. 465-467, 2000.

AZEREDO, H. M. C.; BRITO, E. S. Ultrassom. In: AZEREDO, H. M. C. de (Ed.). **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. 2. ed. rev. ampl. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012.

BADOLATO, G. G. **Tratamento Térmico minimo em suco de laranja natural: cinética de inativação da pectinesterase.** Dissertação (Mestre em Engenharia Quimica). Universidade de São Paulo – SP. 2000.

BAKER, R. A.; CAMERON, R. G. Clouds of citrus juices and juice drinks. **Food Technology**, v. 53, p. 64−69, 1999.

BARBETA, V. B.; MARZZULLI, C. R. Experimento didático para determinação da velocidade de propagação do som no ar, assistido por computador. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 22, n. 4, 2000.

BEHREND, O.; SCHUBERT, H. Influence of hydrostatic pressure and gas content on continuous ultrasound emulsification by ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry,** v. 8, p. 271–276, 2001.

BERMUDEZ-AGUIRRE, D.; MAWSON, R.; VERSTEEG, K.; & BARBOSA-CANOVAS, G. V. Composition properties, physicochemical characteristics and shelf life of whole milk after thermal and thermosonication treatments. **Journal of Food Quality**, v. 32, p. 283-302, 2009.

BOBBIO, F. O; BOBBIO, P.A. **Química do processamento de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 478p. 2001.

BRANDÃO, E.M.; ANDRADE, C.T. Influência de fatores estruturais no processo de gelificação de pectinas de alto grau de metoxilação. **Polímeros**, v.9, n.3, p. 38-44,1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. Instrução Normativa n°1 de 07 de janeiro de 2000. Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de fruta. **Diário oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília (DF), 10 de janeiro de 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília (DF), 10 de janeiro de 2001

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Decreto n° 6871. Padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário oficial da República Federativa do Brasil.** Brasília (DF), 4 de julho de 2009.

BUTZ, P.; TAUSCHER, B. Emerging technologies: chemical aspects. **Food Research International.** v. 35 (2/3), p. 279– 284, 2002.

CAMERON, R. G.; BAKER, R. A.; GROHMANN, K. Multiple forms of pectinmethylesterase from citrus peel and their effects on juice cloud stability. **Journal of Food Science**, v. 63, p. 253−256, 1998.

CAMINITI, I. M.; NOCI, F.; MORGAN, D. J.; CRONIN, D. A.; LYNG, J. G. The effect of pulsed electric fields, ultraviolet light or high intensity light pulses in combination with manothermosonication on selected physico-chemical and sensory attributes of an orange and carrot juice blend. **Food and Bioproducts Processing** v. 90, p. 442–448, 2012.

CARDELLO, H. M. A. B.; CARDELLO, L. Teor de vitamin C atividade de ascrbato oxidase e perfil sensorial de manga (Mangifera indica L.) var. Haden, durante o amadurecimento. **Ciência e Tecnologia Alimentar,** v. 18, n. 2, p. 211-217, 1998.

CERRI, M. O.; FUTIWAKI, L.; JESUS, C. D. F.; CRUZ, A. J. G.; BADINO, A. C. Average shear ratefor non-Newtonian fluids in a concentric-tube airlift bioreactor, **Biochemical Engineering Journal**, v. 39, p. 51–57, 2008.

CHANDRAPALA, J.; OLIVER, C.; KENTISH, S.; ASHOKKUMAR, M. Ultrasonics in food processing - Food quality assurance and food safety. **Trends in Food Science & Technology** v. xx, p. 1-11, 2012a.

CHANDRAPALA, J.; OLIVER, C.; KENTISH, S.; ASHOKKUMAR, M. Ultrasonics in food processing. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 19, p. 975–983, 2012.

CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA, M.K.; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction, **Ultrasonics Sonochemistry,** v. 18, p. 813–835, 2011.

CHEN, C. S.; SHAW, P. E.; PARISH, M. E. Orange and tangerine juice. In: NAGY, S.; CHEN, C. S.; SHAW, P. E. (Ed). **Fruit juice processing technology**. Flórida: Agscience, 1993. p. 110-165.

CINQUANTA, L.; ALBANESE, D.; CUCCURULLO, G.; DI MATTEO, M. Effect on Orange Juice of Batch Pasteurization in an Improved Pilot-Scale Microwave Oven. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 1, 2010.

CITRUSBR. **Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos.** Disponivel em: < http://www.citrusbr.com/> Acesso em: 01/02/2014.

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.

COMARELLA, C. G.; SAUTTER, C. K.; EBERT, L. C.; PENNA, N. G. Polifenóis totais e avaliação sensorial de suco de uvas Isabel tratadas com ultrassom. **Braz. J. Food Technol**., IV SSA, p. 69-73, 2012.

CONDÓN, S. RASO, J. PAGÁN, R. Microbial inactivation by ultrasound. In: BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; TAPIA, M. S.; CANO, M. P. **Novel food processing technologies**. 2ª ed. Boca Raton: Editora CRC Press, cap. 19, p. 423-442, 2005.

CORREA NETO, R. S.; FARIA, J. A. F. Fatores que influenciam na qualidade do suco de laranja. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 19, n.1, p. 153-60, 1999.

CROAK, S.; CORREDIG, M. The role of pectin in stabilization of orange juice: effect of pectin methylesterase and pectinase activity on the size of cloud particles. **Food Hydrocolloids**. v. 20, p. 961-965, 2005.

CROSBY, L. Juices pasteurized ultrasonically. **Food Production/ Management,** Sept., 16, 1982.

DANIELI, F.; COSTA, L. R. L. G.; SILVA, L. C.; HARA, A. S. S.; SILVA, A. A. Determinação de vitamina C em amostras de suco de laranja in natura e amostras comerciais de suco de laranja pasteurizado e envasado em embalagem Tetra Pak. **Rev Inst Ciênc Saúde**, v. 27(4), p. 361-5, 2009.

DEDE, S.; ALPAS, H.; BAYINDIRLI, A. High hidrostatic pressure treatment and storage of carrot and tomato juices: antioxidant activity and microbial safety. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.87, p.773-782, 2007.

DELLA LUCIA, S. M.; MINIM, V. P. R. Grupo de foco. In: MINIM, V. P. R. (Ed.). **Análise sensorial: estudos com consumidores**. 2ª ed. Viçosa: Editora UFV, cap. 4, p. 83-107, 2010.

DELLA TORRE, J. C. M.; RODAS, M. A. B.; BADOLATO, G. G.; TADINI, C. C. Perfil sensorial e aceitação de suco de laranja pasteurizado minimamente processado. **Cienc. Tecnol. Aliment**., v. 23(2), p. 105-111, 2003.

DE LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, L. S. Avaliação da qualidade de suco de laranja industrializado. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 18, n. 1, p. 95-104, 2000.

DE PAULA, A. T.; CASAROTTI, S. N.; BRAGA, H. F.;DE GRANDI, A. Z.; ROSSI, D. A. Avaliação Microbiológica em Suco de Laranja in natura pelo Sistema Rápido Compact Dry. **Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 13(1), p. 55-8, 2011.

DRAKOPOULOU, S. et al. Ultrasound-induced inactivation of gram-negativa and gram-positive bacteria in secondary treated municipal wastewater. **Ultrasonics Sonochemistry** v.16, p. 629-634, 2009.

DUBROVIC, I.; HERCEG, Z.; JAMBRAK, A. R.; BADANJAK, M.; DRAGOVIC-UZELAC, V. Effect of high intensity ultrasound and pasteurization on anthocyanin contente in strawberry juice. **Food Technol. Biotechnol**., v. 49 (2), p. 196 – 204 2011.

FALVELA, C.V. Frutas cítricas: as frutas são alimentos que oferecem uma grande variedade de sabores e aromas agradáveis. **Nutrição Brasil**, v.3, n.2, p.106-114, 2004.

FAO - **FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS**. Statistics: FAOSTAT/ProdSTAT/Crops. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>. Acesso em: 16 set. 2010.

FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de análise sensorial**. Campinas: ITAL/LAFISE, 116 p. 2002.

FELLOWS, P., 2000. **Food Processing Technology: Principles and Practice**, 2nd ed. CRC Press, New York.

FONTES, R. V.; SANTOS, M. P.; FALQUETO, A. R.; SILVA, D. M. Atividade da pectinametilesterase e sua relação com a perda de firmeza da polpa de mamão cv. Sunrise solo e tainung. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 054-058, 2008.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos princípios e aplicações.** São Paulo: Editora NOBEL, 504p., 2009

GAYÁN, E.; SERRANO, M. J.; MONFORT, S.; ÁLVAREZ, I.; CONDÓN, S. Combining ultraviolet light and mild temperatures for the inactivation of Escherichia coli in orange juice. **Journal of Food Engineering**, v. 113, p. 598–605, 2012.

GIOVANE, A.; SERVILLO, L.; BALESTRIERI C.; RAIOLA, A.; D'AVINO, R.; TAMBURRINI, M.; CIARDIELLO, M. A.; CAMARDELLA, L. Pectin methylesterase inhibitor. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1696, p. 245–252. 2004.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M.; ORSOLANI, L.; MARTÍNEZ-YÉPEZ, A.; TAPIA, M. S. Microbiological and sensory quality of sonicated calcium-added orange juice. **LWT - Food Science and Technology** v. 43 p. 808–813, 2010.

GREGORY III, J. F. Vitamins. In: FENEMA, O. R. (Ed). **Food chemistry**. 4rd ed. New York: Marcel Dekker, 2010. p. 488-493.

GUMMADI S.N.; PANDA T. "Purification and biochemical properties of microbial pectinases: a review." **Process Biochem**, v. 38, p. 987-996, 2003.

HOFFMANN F. L.; BUENO S. M.; VINTURIM, T. M. Qualidade microbiológica de sucos de frutas "in natura". **Hig Aliment**., v. 15(80-81), p. 59-62, 2001.

JANG, J.-H.,; MOON, K.-D. Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. **Food Chemistry**, v. 124, p. 444-449, 2011.

JIRANEK, V.; GRBIN, P.; YAP, A.; BARNES, M.; BATES, D. High power ultrasonics as a novel tool offering new opportunities for managing wine microbiology. **Biotechnol Lett** v. 30, p.1–6, 2008.

JOLIE, R. P.; DUVETTER, T.; HOUBEN, K.; CLYNEN, E.; SILA, D. N.; LOEY, A. M. V.; HENDRICKX, M. E. Carrot pectin methylesterase and its inhibitor from kiwi fruit: Study of activity, stability and inhibition. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, p. 601–609, 2009.

JOLIE, R. P.; DUVETTER, T.; LOEY, A. M. V.; HENDRICKX, M. E. Pectin methylesterase and its proteinaceous inhibitor: a review. **Carbohydrate Research**, v. 345, p. 2583–2595, 2010.

KADKHODAEE, R.; POVEY, M. J. W. Ultrasonic inactivation of Bacillus a-amylase. I. Effect of gas content and emitting face of probe. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15 (2), p. 133-142, 2008.

KNORR, D.; ZENKER, M.; HEINZ, V.; LEE, D. U. Applications and potential of ultrasonics in food processing. **Trend Food Science Technology,** v. 15, p. 261-266, 2004.

KRAUSE, G.; TERZAGIAN, R.; HAMMOND, R. Outbreak of Salmonella serotype anatum infection associated with unpasteurized orange juice. **South Med. J. Dec.** v. 94, p. 1168-1172, 2001.

KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de Alimentos teoria e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: Editora GEN, 242p., 2010.

KORN, M. ANDRADE, M. V. A. S.; BORGES, S. S. Procedimentos analíticos assistidos por ultrassom. **Revista Analytica**, n. 3, p. 34-39, 2003.

LIMA FILHO, T.; TEIXEIRA, L. J. Q.; ROCHA, C. T.; FERREIRA, G. A. M.; SOUZA, M. C. Energia ionizante na conservação de alimentos: revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 243-254, 2012.

IIDA, Y.; TUZIUTI, T.; YASUI, K.; TOWATA, A.; KOZUKA, T. Control of viscosity in starch and polysaccharide solutions with ultrasound after gelatinization, Innovative **Food Science and Emerging Technologies** v. 9, p. 140–146, 2008.

MACHADO, T. V. **Avaliação sensorial e físico-química do suco de laranja proveniente das etapas do processamento do suco concentrado e congelado**. Dissertação (Mestre em alimentos e Nutrição), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba – SP. 2010.

MAIA, P. S. P. **Caracterização da distribuição espacial da mosca negra dos citros (Aleurocanthus woglumi ashby, 1915) em pomar georreferenciado para determinar um plano de amostragem seqüencial. 91f**. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém. 2008.

MASKOOKI, A.; KOBAYASHI, T.; MORTAZAVI, S. A.; MASKOOKI, A. Effect of low frequencies and mixed wave of ultrasound and EDTA on flux recovery and cleaning

of microfiltration membranes, **Separation and Purification Technology** v. 59, p. 67–73, 2010.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 4. ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2006.

MOHOLKAR, V. S.; REKVELD, S.; WARMOESKERKEN, M. M. C. G. "Modeling of the acoustic pressure fields and the distribution of the cavitation phenomena in a dual frequency sonic processor", **Ultrasonics**, v. 38(1-8), p. 666-670, 2000.

MULET A.; BENEDITO, J.; GOLAS, y.; CARCEL, J. A. Non-invasive ultrasonic measurements in the food industry. **Food Reviews International**, v. 18, p. 123-133, 2002.

NASCENTES, C. C. Use of ultrasonic baths for analytical aplications: a new approach of optimization conditions. **J. Braz. Chem. Soc.,** v. 12, n. 1, p 57-63, 2001.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F. KALAKI, R. **O retrato da citricultura brasileira**. (2010). Disponivel em <www.citrusbr.com.br>. Acesso em: 01/02/2014.

NOGUEIRA., R. I. **Uso de ultrassom na conservação de alimentos**. (2010) Disponivel em: < http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/880574/1/2010

302.pdf> Acesso em: 20/12/13.

NUSSENZVEIG, H. M. **Curso de Física Básica**, V.2, Ed. Edgard Blucher, São Paulo, 2a. edição (1990).

O'DONNELL, C. P.; TIWARI, B. K.; BOURKE, P.; CULLEN, P. J. Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. **Food Science & Technology** v. 21, p. 358-367, 2010.

OLIVA, P. B. **Influência das variedades citricas (*Citrus sinensis L. Osbeck*) natal, pêra-rio e valência na qualidade do suco de laranja pasteurizado**. Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas – SP. 2002

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. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. v.26 n.2. 2006.

ÖZKAN, M.; AYSEGÜL, K.; CEMEROGLU, B. Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices. **Food Chemistry**, v.88, n.4, p.591-597, 2004.

OZUNA, C.; CÁRCEL, J. A.; GARCÍA-PÉREZ, J. V.; MULET, A. Improvement of water transportmechanisms during potato drying by applying ultrasound. **J Sci Food Agric**., v. 91, p. 2511–2517, 2011.

PAGAN, R., MANAS, P., PALOP, A., SALA, F.J. Resistance of heat-shocked cells to mano-sonication and mano-thermo-sonication. **Letters in Applied Microbiology** v. 28, p. 71–75, 1999.

PAIVA, E. P.; LIMA, M. S. Pectina: propriedades químicas e importância sobre a estrutura da parede celular de frutos durante o processo de maturação. **Revista Iberoamericana,** v. 10, p. 196-211, 2009.

PATIST, A.; BATES, D. Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, p. 147–154, 2008.

PENNA, A. L. B. Hidrocolóides: uso em alimentos. **Food Ingredients**, v.17, p. 58-64, 2002.

PIYASENA, P., MOHAREB, E., & MCKELLAR, R. C. Inactivation of microbes using ultrasound: A review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 87, p. 207−216, 2003.

QUEIROZ, C. E.; MENEZES, H. C. Suco de laranja. In: VENTURINI FILHO, W. G. (Coord.) **Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. São Paulo: Edgard Blücher, p. 221-254, 2005.

QUEIROZ, C. E.; MENEZES, H. C. Suco de laranja. In: VENTURINI FILHO, W. G. (Coord.) **Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. São Paulo: Edgard Blücher, 2005. p. 221-254.

RAMPELOTTO, C. **Pasteurização de salsichas com ultrassom e micro-ondas**. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria – RS, 2012.

RAVIYAN, P.; ZHANG, Z.; FENG, H. Ultrasonication for tomato pectinmethylesterase inactivation: Effect of cavitation intensity and temperature on inactivation. **Journal of Food Engineering**, v. 70, p. 189–196, 2005.

REIS, R. C.; MINIM, V. P. R. Testes de aceitação. In: MINIM, V. P. R. (Ed**.). Análise sensorial: estudos com consumidores**. 2ª ed. Viçosa: Editora UFV, cap. 3, p. 66-82, 2010.

REN, C.; KERMONDE, A. R. An increase in pectin methyl esterase activity accompanies dormancy breakage and germination of yellow cedar seeds. **Plant Physiology**. v. 124, n. 1, p. 231-242, 2000.

RESA, P.; ELVIRA, L.; DE ESPINOSA, F. M.; GONZALEZ, R.; BARCENILLA, J. On-line ultrasonic velocity monitoring of alcoholic fermentation kinetics. **Bioprocessing Biosystem Engineering**, v. 32, p, 321-331, 2009.

RESENDE, J. M.; CHITARRA, M. I. F.; MALUF, W. R.; CHITARRA, A. B.; SAGGIN JUNIOR, O. J. Atividade de enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase durante o amadurecimento de tomates do grupo multilocular. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.2, p.206-212, 2004.

RESNICK, R.; HALLIDAY, D.; KRANE, K. S. **Física 2**. Rio de Janeiro. LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S.A. 1996.

RYU, J-H.; BEUCHAT, L.R. Influence of acid tolerance responses on survival, growth, and termal cross-protection of Escherichia coli O157:H7 in acidified media and fruit juices. **International Journal of Food Microbiology**, v.45, p.185–193, 1998.

SAKAKIBARA, M.; WANG, D.; TAKAHASHI, R.; TAKAHASHI, K.; MORI, S. Influence of ultrasound irradiation on hydrolysis of sucrose catalyzed by invertase. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 18(1), p. 444-448, 1996.

SALA, F.J.; BURGOS, J.; CONDON, S.; LOPEZ, P.; RASO, J. Effect of heat and ultrasound on microorganisms and enzymes. In: Gould, G.W. (Ed.), **New Methods of Food Preservation**. Blackie Academic & Professional, London, p. 176–204, 1995.

SAWANT, S. S.; ANIL, A. C.; KRISHNAMURTHY, V.; GAONKAR, C.; KOLWALKAR, J.; KHANDE-PARKER, L.; DESAI, D.; MAHULKAR, A. V.; RANADE, V. V.; PANDIT, A. B. Effect of hydrodynamiccavitation on zooplankton: a tool for disinfection. **Biochemical Engineering Journal**, v. 42, p. 320–328, 2008.

SEBRAE. **Consumo de suco cresce no Brasil**. Disponivel em:< http://www.sebrae.com.br/setor/fruticultura/osetor/mercado/panorama/integra_bia/ident_unico/18283 >. Acesso em: 18/09/2013.

SELLI, S.; CABAROGLU, T.; CANBAS, A. Volative flavour components of orange juice obtained from the cv. Kozan of Turkey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.17, n.6, p.789-796, 2004.

SILVA, P. T.; FIALHO, E.; LOPES, M. L. M.; VALENTE-MESQUITA, V. L. Sucos de laranja industrializados e preparados sólidos para refrescos: estabilidade química e físico-química. **Ciênc. Tecnol. Aliment**., v. 25(3) p. 597-602. 2005.

SILVA, P. T.; FIALHO, E.; MIGUEL, M. A. L.; LOPES, M. L. M.; VALENTE-MESQUITA, V. L. Estabilidades química, físico-química e microbiológica de suco de laranja cv. “pera” submetido a diferentes condições de estocagem. **B.CEPPA**, v. 25, n. 2, p. 235-246. 2007.

SILVA, J. G. **Utilização de óleos vegetais visando o controle da moscanegra-dos-citros (aleurocanthus woglumi ashby) e suas implicações na qualidade da laranja mimo-do-céu (citrus sinensis osbeck var. Mimo)**. Dissertação (Mestre em Tecnologia Agroalimentar). Universidade Federal da Paraíba – PB, 2011.

SILVA, B. C. A. S. **Estudo das incertezas na medição de espessura por ultrassom em peças aeronáuticas**. Dissertação (Mestre em Engenharia Mecânica e Tecnologia de Materiais) Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca – RJ, 2012.

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

SOUZA, A. R. **Experimentos em ondas mecânicas**. Dissertação (Mestre em Ensino de Física). Universidade Federal do Rio de Janeiro – RJ, 2011.

STANGA, M. Sanitation: **Cleaning and disinfection n the food industry**. Weihein: ed. Wiley-VCH. 2010

STONE, H. S.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. San Diego: Academic Press, 308p. 1993.

TARRANT, P. V. Some recent advances and future priorities in research for the meat industry. **Meat Science** v. 49, p. S1–16, 1998.

TEIXEIRA, M.; MONTEIRO, M. Degradação da vitamina c em suco de fruta. **Alim. Nutr.,** v.17, n.2, p.219-227, 2006.

TEREFE, N. S.; GAMAGE, M.; VILKHU, K.; SIMONS, L.; MAWSON, R.; VERSTEEG, C. The kinetics of inactivation of pectin methylesterase and polygalacturonase in tomato juice by thermosonication. **Food Chemistry**, 117, 20–27. 2009.

TETRA PAK. **The orange book**. 206 p, 1998.

TRIBESS, T. B. Estudo da cinética de inativação térmica de pectnametilesterase em suco de laranja natural minimamente processado. Dissertação (Mestre em Engenharia). Universidade de São Paulo – SP. 2003.

TIWARI, B. K., MUTHUKUMARAPPAN, K., O'DONNELL, C. P., & CULLEN, P. J. Colour degradation and quality parameters of sonicated orange juice using response surface methodology. **LWT e Food Science Technology**, v. 41, p. 1876-1883, 2008a.

TIWARI, B. K., O'DONNELL, C. P., PATRAS, A., & CULLEN, P. J. Anthocyanin and ascorbic acid degradation in sonicated strawberry juice. **Journal of Agricultural & Food Chemistry**, v. 56, p. 10071-10077, 2008b.

TIWARI, B. K.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; O'DONNELL, C. P.; CULLEN, P.J. Inactivation kinetics of pectin methylesterase and cloud retention in sonicated orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, p. 166–171, 2009.

TORLEY, P. J.; BHANDARI, B. R. Ultrasound in food processing and preservation. In: RAHMAN, M. S. (Ed.) **Handbook of food preservation**. 2ª ed. Boca Raton: Editora CRC Press, cap. 19, p. 713-732, 2007.

THURSTON, H.; STUART, J.; MCDONNELL, B.; NICHOLAS, S.; CHEASTY, T. Fresh orange juice implicated in an outbreak of Shigella flexneri among visitors to a South African game reserve. **J. Infect**. v. 36, p. 350, 1998.

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

WANG, J.; HU, X.; WANG, Z. Kinects models for the inactivation of Alicyclobacillus acidiphilus DSM14558^{T} and Alicyclobacillus acidoterrestris DSM 3922^{T} in apple juice by ultrasound. **International Journal of Food Microbiology**, v. 139, p. 177-181, 2010.

WILINSKA, A.; RODRIGUES, A. S. F.; BRYJAK, J.; POLAKOVIC, M. Thermal inactivation of Exogenous pectin methylesterase in apple and cloudberry juices. **Journal of Food Engineering**, v. 85, p. 459–465, 2008.

XU, Z.; ZHANG, L.; WANG, Y.; BI, X.; BUCKOW, R.; LIAO, X. Effects of high pressure O2 treatments on microflora, enzymes and some quality attributes of apple juice. **Journal of Food Engineering**, v. 104, p. 577–584. 2011.

YAPO, B. M. Pectins substances: from simple pectic polysaccharides to complex pectins: a new hypothetical model. Carbohydrate Polymers, v. 86, p. 155-189, 2011.

YUSAF, T. Experimental study of microorganism disruption using shear stress. **Biochemical Engineering Journal**, v. 79, p. 7– 14, 2013.

ZHONG, M. T.; MING, X. W.; SU, P. W.; JU, Q. K. Effects of ultrasound and additives on the function and structure of trypsin. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, p. 399–404,2004.

CAPÍTULO I

EFEITO DA SONICAÇÃO E DA TERMOSSONICAÇÃO SOBRE MESÓFILOS TOTAIS E BOLORES E LEVEDURAS EM SUCO DE LARANJA

RESUMO

SCHUINA, Guilherme Lorencini. **Efeito da sonicação e da termossonicação sobre mesófilos totais e bolores e leveduras em suco de laranja.** 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre - ES. Orientadora: Profª. Drª. Raquel Vieira de Carvalho. Co-orientadora: Profª. Drª. Pollyanna Ibrahim Silva

O suco de laranja é amplamente consumido em todo o mundo devido ao seu sabor agradável, por ser saudável e fonte de vitamina C. Diversos fatores podem afetar a qualidade do suco de laranja. A microbiota típica presente no suco de laranja pode ser proveniente de várias etapas da produção do suco. A pasteurização e a esterilização comercial são os métodos mais comuns utilizados para inativar os micro-organismos deteriorantes. A tecnologia de ultrassom vem sendo estudada recentemente como uma forma de se conservar os alimentos sem causar efeitos adversos proporcionados pelos tratamentos térmicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização da tecnologia de ultrassom e de ultrassom aliado a temperaturas brandas como forma de reduzir a população de mesófilos totais e bolores e leveduras em suco de laranja. Utilizou-se um ultrassom de 40 kHz, associado às temperaturas de 25 ºC, 30 ºC, 40 ºC, 50 ºC e 60 ºC por 10 min. Os tratamentos utilizando ultrassom a 50 ºC e 60 ºC foram capazes de reduzir a contagem de bolores e leveduras e mesófilos totais, apresentando uma redução de 3 ciclos logarítmicos. Resultado similar foi encontrado quando realizado o tratamento térmico à 90 ºC por 30 segundos, geralmente utilizado para o suco. Compreende-se então que a utilização da termossonicação como uma forma de conservação para suco de laranja é viável.

Palavras Chave: Ultrassom, suco de laranja, conservação de alimentos

ABSTRACT

SCHUINA, Guilherme Lorencini. **Effect of sonication and thermosonication on mesophilic and yeasts count in orange juice.** 2014. Dissertation (Master's degree in Food Science and Technology) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre - ES. Adviser: Profª. Drª. Raquel Vieira de Carvalho. Co-Adviser: Profª. Drª. Pollyanna Ibrahim Silva

The orange juice is widely consumed across the world. This occurs because of its pleasant taste and because the juice is considered to be healthy and a great source of vitamin C. Several factors may affect the quality of orange juice. Typical microorganisms present in the orange juice can be obtained from various stages of production. Pasteurization and commercial sterilization are the most common methods used to inactivate spoilage microorganisms. The ultrasound technology has recently been studied as a way to preserve food without causing adverse effects caused by heat treatments. The objective of this study was to evaluate the use of sonication and thermosonication, in order to reduce the population of mesophilic and yeasts count in orange juice. We used an 40 kHz ultrasound, associated to temperatures of 25 ºC, 30 ºC, 40 ºC, 50 ºC and 60 ºC for 10 min. Treatments using ultrasound at 50 ºC and 60 °C were able to reduce the count of yeasts and molds and mesophilic , in 3 log cycles. Same result was found when the heat treatment at 90 °C held for 30 seconds, the usually used for juice. The thermossonication treatment is considered an potential alternative method of food preservation.

Keywords: Ultrasound, orange juice, food preservation.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é, mundialmente, uma das principais regiões produtoras de laranja sendo o maior produtor e exportador de suco de laranja. Detém aproximadamente, 50% da produção mundial do fruto (OLIVEIRA et al., 2006).

O suco de laranja é amplamente consumido em todo o mundo devido ao seu sabor agradável e seu custo relativamente baixo (ÖZKAN, AYSEGÜL e CEMEROGLU, 2004; SELLI, CABAROGLU e CANBAS, 2004), e ainda por ser reconhecidamente saudável e excelente fonte de vitamina C (DELLA TORRE et al., 2003; FALVELA, 2004; SILVA et al., 2007)..

Diversos fatores podem afetar a qualidade de suco de laranja, estes são de origem microbiológica, química, física e enzimática (CORREA NETO e FARIA, 1999). A microbiota típica presente no suco de laranja pode ser proveniente de várias etapas da produção do suco (BRACKETT, 1992). Por ser um alimento ácido, a deterioração bacteriana do suco está mais associada a bactérias ácido tolerantes e bolores e leveduras (DE LIMA, MÉLO E LIMA, 2000), embora haja relatos na literatura de contaminação de sucos com patógenos não resistentes a ambientes com elevada acidez (BRITO e ROSSI, 2005).

A pasteurização e a esterilização comercial são os métodos mais comuns utilizados para inativar enzimas e micro-organismos que possam alterar o alimento de maneira indesejada (WANG, HU e WANG, 2010; DUBROVIC et al., 2011). Estes métodos, apesar de terem boa eficiência neste propósito, apresentam efeitos adversos em relação às características sensoriais (cor, sabor, aroma, entre outros) e nutricionais dos produtos (TEREFE et al., 2009).

Existe, recentemente, uma crescente demanda dos consumidores por produtos alimentícios com características mais próximas àquelas encontradas naturalmente, ou seja, características do produto não processado (BULL et al., 2004; SILVA et al., 2005; LIMA FILHO et al., 2012). Com isso, tem-se aumentado a busca por métodos alternativos de conservação de alimentos, com objetivo de obter produtos seguros e com manutenção de suas características sensoriais (PIYASENA, MOHAREB e MCKELLAR, 2003).

Neste contexto, surgem os métodos não térmicos de conservação de alimentos (ZHONG et al., 2004; GAYAN et al., 2012), dentre os quais, pode-se destacar o uso de alta pressão, a irradiação, o uso de campos elétricos pulsados de alta intensidade (CEPAI), pulsos luminosos, ultrassom, entre outros (KNORR et al., 2004; CHANDRAPALAA et al., 2012). A tecnologia de ultrassom, juntamente com CEPAI e alta pressão, é umas das tecnologias não térmicas para conservação de alimentos mais promissoras (CONDÓN, RASO e PAGÁN, 2005), considerada como uma tecnologia em potencial para utilização pela US Food and Drug Administration (TIWARI et al., 2009).

O ultrassom tem efeito na redução da população bacteriana devido ao fenômeno da cavitação (GÓMEZ-LÓPEZ et al., 2010). Este fenômeno envolve mudanças drásticas de pressão à medida que a onda acústica é transmitida pelo alimento, formando zonas de pressão muito alta e de pressão muito baixa, afetando a célula do micro-organismo e propiciando um efeito de esterilização no meio (CONDÓN, RASO e PAGÁN, 2005; CHENG et al., 2007).

O uso de ultrassom como forma de conservar alimentos vem sendo bem estudado recentemente. Wu et al., (2008) estudaram o efeito do ultrassom na inativação de pectinametilesterase e poligalacturonase em suco de tomate. Gera e Doores (2011) reportaram sobre a inativação de *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* em leite. Bermúdez-Aguirre e Barbosa-Cánovas, (2012) avaliaram o efeito da termossonicação na inativação de *Saccharomyces cerevisiae* em suco de abacaxi, uva e *cranberry*.

Diante disto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização da tecnologia de ultrassom e de ultrassom aliado a temperaturas brandas, como forma de reduzir a população de mesófilos totais e bolores e leveduras em suco de laranja.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As laranjas foram adquiridas no comércio local do município de Alegre/ES e levadas ao Laboratório de Química de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da

Universidade Federal do Espírito Santo, onde passaram por um processo de lavagem com água corrente, sem ocorrer sanitização, e foram processadas na forma de suco, utilizando um processador de suco manual.

Os sucos foram submetidos a sete diferentes tratamentos (Tabela 1), sendo um tratamento controle (suco natural), outro tratamento suco submetido tratamento térmico de pasteurização (90 ºC /30 seg) em banho termoestático. E os demais tratamentos realizados submetendo o suco a um banho ultrassônico de 40 kHz a temperaturas que variaram entre 25 ºC e 60 ºC.

Nos tratamentos utilizando ultrassom as amostras foram colocadas em alíquotas de 10 ml em tubo falcon (15 ml), tiveram sua temperatura elevada à temperatura de tratamento em banho termostático, e em seguida foram colocadas no banho ultrassônico (lavadora ultrassônica Soniclean 2PS, Sanders) onde foram submetidas à sonicação por 10 minutos. A temperatura da amostra foi controlada com a temperatura da água do equipamento. As amostras tratadas foram levadas ao laboratório de Microbiologia de Alimentos do CCA-UFES, onde se realizou a contagem de mesófilos totais e de bolores e leveduras.

Tabela 1– Codificação das amostras de suco de laranja e tratamentos ao qual foram submetidas

Tratamento	Ultrassom	Temperatura
NAT	-	-
US25	40 kHz	25 ºC*
US30	40 kHz	30 ºC*
US40	40 kHz	40 ºC*
US50	40 kHz	50 ºC*
US60	40 kHz	60 ºC*
TT	-	90 ºC**

*Tratamento aplicado por 10 minutos ** tratamento aplicado por 30 seg.

2.1. MESÓFILOS TOTAIS

A contagem de mesófilos totais foi realizada utilizando metodologia proposta por Swanson, Petran e Hanlin (2001), em que, de cada uma das amostras, foram retiradas alíquotas de 1 ml e diluídas 5 vezes em água peptonada 0,1% (m/v). Em seguida, 1 ml de cada diluição foi depositado em placa de Petri utilizando a técnica Pour Plate, em meio de cultura ágar para contagem padrão (PCA). As amostras foram incubadas em estufas bacteriológicas B.O.D. a 35 ºC por 48 horas e em seguida realizou-se a contagem visual das unidades formadoras de colônia (UFC/ml).

2.2. BOLORES E LEVEDURAS

A contagem de bolores e leveduras foi realizada de acordo com metodologia proposta por Swanson, Petran e Hanlin, (2001), em que de cada uma das amostras foram retiradas alíquotas de 1 ml e diluídas 5 vezes em água peptonada 0,1% (m/v). Em seguida, 0,1 ml de cada diluição foram depositados em placa de Petri utilizando a técnica Spread Plate, em meio de cultura agar batata dextrose (BDA). As amostras foram incubadas em estufas bacteriológicas B.O.D. a 25 ºC por 7 dias e em seguida realizou-se a contagem visual da unidades formadoras de colônia (UFC/ml).

2.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento foi conduzido seguindo o delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições para cada tratamento e em duplicata. Os dados dos tratamentos com ultrassom a diferentes temperaturas foram submetidos a análise de variância univariada (ANOVA) e análise de regressão. A comparação entre os tratamentos utilizando ultrassom com o tratamento térmico convencional e o tratamento controle foi realizada por ANOVA. O teste de Tukey foi utilizado quando a ANOVA apresentou diferença estatística entre os tratamentos. Todas as análises

utilizaram o nível de 5% de probabilidade. O programa Sistema para Análises Estatísticas SAEG (2007) foi utilizado para realizar as análises estatísticas

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação à contagem de mesófilos totais, percebe-se que houve uma maior redução na população de mesófilos à medida em que a temperatura foi elevada conjuntamente com o tratamento ultrassom (Figura 5). O modelo linear foi o que melhor expressou a redução da contagem de mesófilos totais em função da temperatura utilizada, apresentando R^2 de 0,883.

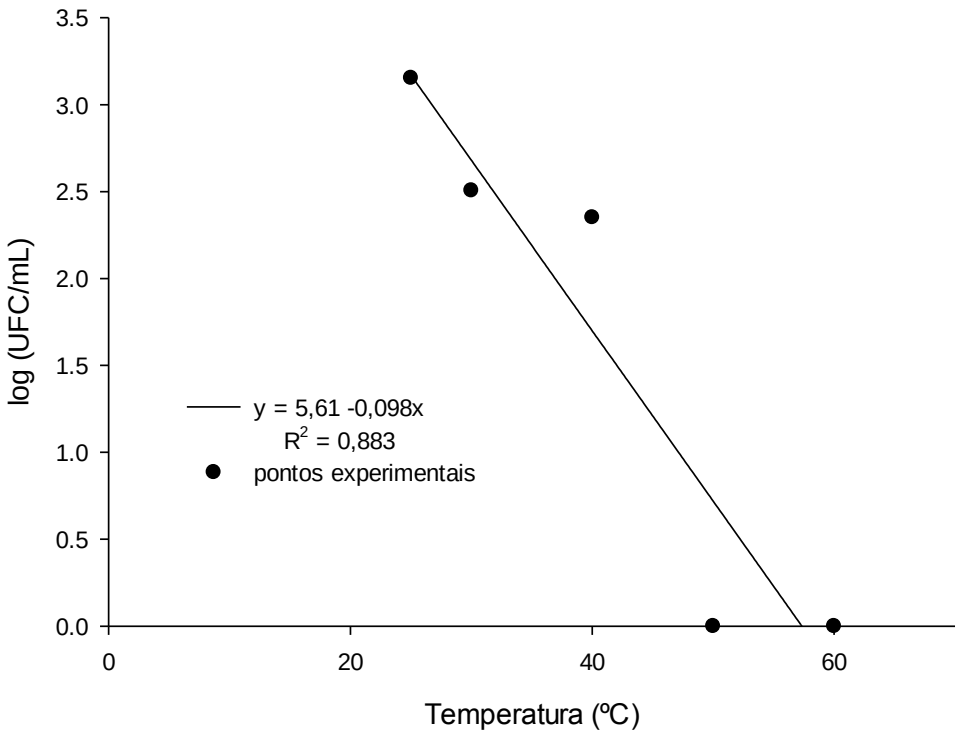


Figura 5 – Contagem de mesófilos totais em função da temperatura utilizada em conjunto com tratamento de ultrassom.

Comparando-se os tratamentos utilizando ultrassom com o tratamento térmico usualmente empregado para suco de laranja, e o suco natural, percebe-se que a

sonicação a 40 kHz e 25 ºC não apresentou diferença significativa (p > 0,05%) em relação à contagem de mesófilos totais encontrados no suco natural (Tabela 2). Os demais tratamentos diferiram do suco natural, apresentando menor contagem de mesófilos totais. Os tratamentos utilizando sonicação a 30 e 40 ºC apresentaram redução na contagem microbiana inicial, porém, a mesma não diferiu daquela observada no tratamento com sonicação a 25 ºC.

Tabela 2 – Contagem de mesófilos totais e bolores e leveduras para suco de laranja 'in natura', tratados com ultrassom e pasteurizado

Tratamento	Mesófilos Totais (UFC/ml)	Bolores e Leveduras (UFC/ml)
NAT	$1,9 \times 10^{3\ a}$	$2,9 \times 10^{3\ a}$
US25	$1,4 \times 10^{3\ ab}$	$9,8 \times 10^{2\ ab}$
US30	$3,2 \times 10^{2\ bc}$	$8,4 \times 10^{2\ ab}$
US40	$2,2 \times 10^{2\ bc}$	$3,3 \times 10^{2\ b}$
US50	$<10^{0\ c}$	$<10^{0\ b}$
US60	$<10^{0\ c}$	$<10^{0\ b}$
TT	$<10^{0\ c}$	$<10^{0\ b}$

Em cada coluna as médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Em comparação ao tratamento térmico, a sonicação a 40 kHz associada às temperaturas de 30 ºC, 40 ºC, 50 ºC e 60 ºC apresentaram resultados estatisticamente idênticos. Logo o uso de sonicação aliado a temperaturas moderadas pode ser um método de conservação alternativo para suco de laranja em substituição ao tratamento térmico usualmente empregado.

Diante disso, observa-se que ocorreu uma redução de cerca de 3 ciclos logarítmicos na contagem de mesófilos totais, ao aplicar tratamento de ultrassom aliado a temperaturas de 50 e 60 ºC. Resultado similar ao obtido pelo tratamento térmico convencional. Valero et al., (2007) ao processar suco de laranja com ultrassom em um equipamento de fluxo contínuo, não verificaram redução na

contagem de mesófilos totais, nas condições por eles testadas. Neste mesmo estudo, ao utilizar um equipamento de ultrassom de 23 kHz e temperatura de 88 ºC os autores obtiveram uma redução de 1,7 ciclos logarítmicos, valor inferior ao encontrado no presente estudo.

Zafra-Rojas et al. (2013) utilizando ultrassom a 20 kHz por 15 minutos observaram uma redução de 2 ciclos logarítmicos na contagem bacteriana total em placas para suco de palma forrageira. Os autores relataram que o resultado é considerado satisfatório em comparação com as normas sanitárias para suco pasteurizado.

Observando-se a Tabela 2, percebe-se ainda que o suco de laranja apresentou contagem inicial de mesófilos totais de 1,9 x 10^3 UFC/ml, sendo uma população microbiana pequena em comparação com à contagem encontrada em sucos vendidos em estabelecimentos comerciais. Oliveira et al. (2006) observaram uma contagem de mesófilos totais na ordem de 10^5 e 10^6 UFC/ml em amostras de suco não pasteurizadas. Ao verificar a contagem de mesófilos em suco de laranja natural Nascimento e Furlanetto, (1981) também encontraram contagem entre 10^5 e 10^6 UFC/ml. Essa diferença na contagem total de mesófilos deve-se provavelmente as condições higiênicas encontradas no processo, visto que Cinquanta et al., (2010) em condições laboratoriais encontraram contagem de mesófilos totais na faixa de 10^3 UFC/ml, valores também encontrados no referido experimento.

A contagem de bolores e leveduras, assim como a contagem de mesófilos totais, foi reduzindo à medida em que se aumentou a temperatura utilizada em conjunto com o tratamento de ultrassom (Figura 6). O modelo linear, mais uma vez, foi o que melhor representou esse fenômeno, apresentando um R^2 de 0,863, o que mostra uma ótima correlação entre os pontos experimentais e o modelo proposto.

Comparando os resultados obtidos nos tratamentos utilizando ultrassom, daqueles encontrados no suco natural e no suco conservado por tratamento térmico convencional, percebe-se que os tratamentos utilizando ultrassom nas temperaturas de 25 ºC e 30 ºC apresentaram contagem de bolores e leveduras estatisticamente iguais às encontradas no suco natural (Tabela 2). Já os tratamentos com ultrassom e temperaturas de 40, 50 e 60 ºC apresentaram contagem de bolores e leveduras

inferiores às encontradas no suco natural, evidenciando sua capacidade de reduzir a contaminação microbiana. O tratamento térmico também se mostrou efetivo em reduzir a população microbiana inicial.

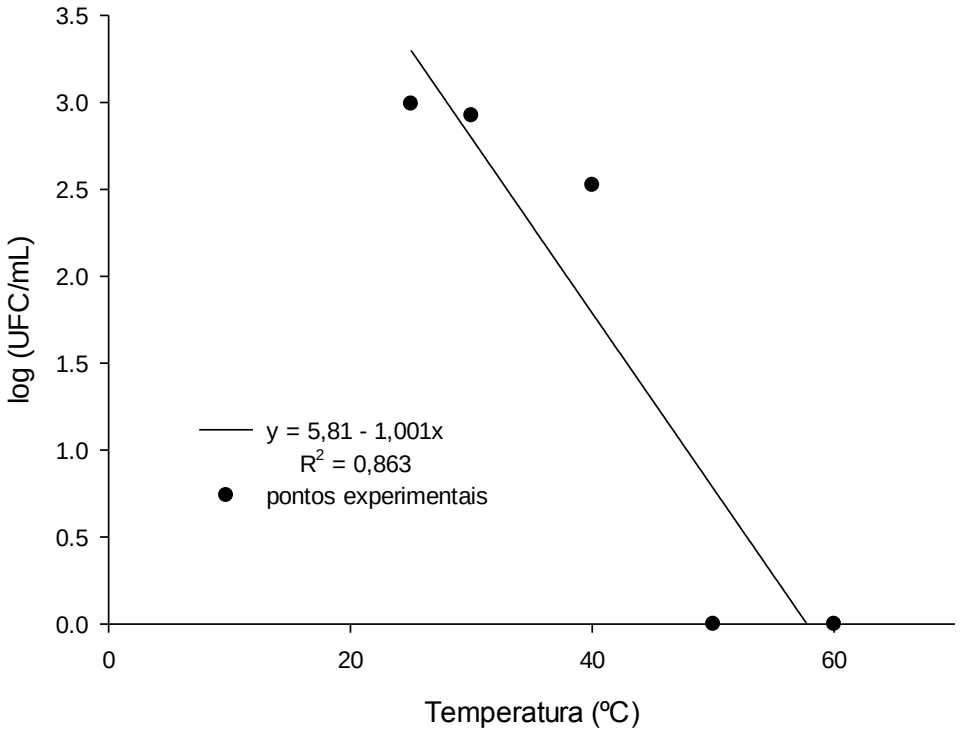


Figura 6 – Contagem de bolores e leveduras em função da temperatura utilizada em conjunto com tratamento de ultrassom.

Em relação ao tratamento térmico convencional, percebe-se que a contagem de bolores e leveduras obtida nos tratamentos utilizando ultrassom nas temperaturas de 25 ºC, 30 ºC, 40 ºC, 50 ºC e 60 ºC foi estatisticamente igual, mais uma vez mostrando que o uso de termossonicação é uma alternativa para substituir o tratamento térmico convencional (Tabela 2).

É possível perceber uma redução de aproximadamente 3 ciclos logarítmicos na população de bolores e leveduras nos tratamentos utilizando ultrassom de 40 kHz e temperaturas de 50 ºC e 60 ºC. Valero et al. (2007) não observaram redução na contagem de bolores e leveduras em nenhuma situação por eles testadas ao avaliar

o efeito do ultrassom no processamento de suco. Deste modo, verifica-se a importância de continuar a realização de estudos sobre o assunto.

Gómez-López et al. (2010) conseguiram uma redução de aproximadamente 1 ciclo logarítmico na contagem de bolores e leveduras ao aplicar sonicação a 10 ºC em suco de laranja adicionado de cálcio, mostrando mais uma vez a importância de se utilizar outros métodos de conservação em conjunto com a sonicação, para obter um efeito sinergístico, como demonstrado por Guerrero, López-Malo e Alzamora, (2001). Desta forma resultados melhores em termos de redução da população microbiana seriam encontrados.

Bhat et al. (2011) ao avaliar o efeito da sonicação (25 kHz, 20 ºC) na melhoria da qualidade de suco de limão (*Citrus microcarpa*), observaram uma redução significativa na população microbiana, tanto para mesófilos totais quanto para bolores e leveduras, após 60 minutos de aplicação do ultrassom. Isto indica, segundo os autores que os micro-organismos são resistentes ao tratamento somente com ultrassom, e que a efetividade do método só ocorre após longos períodos de aplicação.

Os experimentos de Adekunte et al. (2010) e Chemat, Zill-e-Huma e Khan (2011) também evidenciaram a baixa eficiência na redução da contagem microbiana ao se utilizar somente a sonicação, porém estes mesmos autores relataram que o uso do ultrassom combinado com outro método de conservação é efetivo e deve ser utilizado.

O ultrassom afeta os micro-organismos devido às zonas de alta pressão e alta temperatura formada durante o processamento, por meio da cavitação (FELLOWS, 2000; BUTZ e TAUSCHER, 2002). As bolhas formadas durante a cavitação passam por ciclos de expansão e compressão e acabam se rompendo bruscamente (PIYASENA, MOHAREB e MCKELLAR, 2003). Este fenômeno cria uma força de cisalhamento localizada, que atinge significativamente a parede celular dos micro-organismos, fazendo com que ela se rompa (CERRI et al., 2008; SAWANT et al., 2008; YUSAF, 2013). As zonas de alta temperatura não têm tanto efeito por serem muito localizadas e não afetarem uma área grande o suficiente (PATIST e BATES, 2008; RAMPELOTTO, 2012).

4. CONCLUSÃO

Diante do exposto, observa-se que a utilização da termossonicação como uma forma de conservação para sucos é viável, visto que o resultado apresentado utilizando está técnica foi semelhante àquele encontrado utilizando tratamento térmico convencional.

Além disso, a aplicação do ultrassom como único método de conservação não foi suficiente para reduzir a população microbiana inicial, como mostra o resultado utilizando ultrassom e temperatura de 25 ºC, e como evidenciado na literatura.

Percebe-se, assim, que outros estudos são necessários para complementar este trabalho e aumentar os conhecimentos sobre a utilização do ultrassom como forma de reduzir a população microbiana inicial em sucos, e especialmente no suco de laranja, ou ainda para comprovar ainda mais a eficiência deste processo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEKUNTE, A. O.; TIWARI, B. K.; SCANNELL, A. G. M.; CULLEN, P. J.; O'DONNELL, C. P. Modelling of yeast inactivation in sonicated tomato juice, **Int. J. Food Microbiol.** v. 137, p. 116–120, 2010.

BERMÚDEZ-AGUIRRE, D.; CORRADINI, M. G.; MAWSON, R.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Modeling the inactivation of Listeria innocua in raw whole milk treated under thermo-sonication, **Innovative Food Science Emerging Technology** v. 10 p. 172–178, 2009.

BERMÚDEZ-AGUIRRE, D.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Inactivation of Saccharomyces cerevisiae in pineapple, grape and cranberry juices under pulsed and continuous thermo-sonication treatments. **Journal of Food Engineering** v. 108 p. 383–392, 2012.

BHAT, R.; KAMARUDDIN, N. S. C. C.; MIN-TZE, L.; KARIM, A. A. Sonication improves kasturi lime (Citrus microcarpa) juice quality. **Ultrasonics Sonochemistry** v. 18 p. 1295–1300, 2011.

BRACKETT, R.E. Shelf stability and safety of fresh produce as influenced by sanitation and disinfection. **J. Food Prot.,** v. 55, p. 808-814, 1992.

BRITO, C. S.; ROSSI, D. A. Bolores e leveduras, coliformes totais e fecais, em suco de laranja IN NATURA e industrializados não pasteurizados comercializados em Uberlândia-MG. **Biosci. J**. v. 21, n. 1, p. 133-140, 2005.

BULL, M.K.; ZERDIN, K.; HOWE, E.; GOICOECHEA, D.; PARAMANANDHAN, P.; STOCKMAN, R.; SELLAHEWA, J.; SZABO, E. A.; JOHNSON, R.L.; STEWART, C.M. The effect of high pressure processing on the microbial, physical and chemical properties of Valencia and Navel orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.5, n.2, p.135-149, 2004.

BUTZ, P.; TAUSCHER, B. Emerging technologies: chemical aspects. **Food Research International.** v. 35 (2/3), p. 279– 284, 2002.

CHANDRAPALAA, J.; OLIVERB, C.; KENTISHC, S.; ASHOKKUMARA, M. Ultrasonics in food processing - Food quality assurance and food safety. **Trends in Food Science & Technology** v. xx, p. 1-11, 2012

CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA, F.; KHAN, M.K. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction, **Ultrason. Sonochem**. V. 18, p. 813–835, 2011.

CHENG, L. H.; SOH, C. Y.; LIEW, S. C.; TEH, F. F. Effects of sonication and carbonation on guava juice quality. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1396–1401, 2007.

CERRI, M. O.; FUTIWAKI, L.; JESUS, C. D. F.; CRUZ, A. J. G.; BADINO, A. C. Average shear ratefor non-Newtonian fluids in a concentric-tube airlift bioreactor, **Biochemical Engineering Journal**, v. 39, p. 51–57, 2008.

CINQUANTA, L.; ALBANESE, D.; CUCCURULLO, G.; DI MATTEO, M. Effect on Orange Juice of Batch Pasteurization in an Improved Pilot-Scale Microwave Oven. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 1, 2010.

CONDÓN, S. RASO, J. PAGÁN, R. Microbial inactivation by ultrasound. In: BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; TAPIA, M. S.; CANO, M. P. **Novel food processing technologies**. 2ª ed. Boca Raton: Editora CRC Press, cap. 19, p. 423-442, 2005.

CORREA NETO, R. S.; FARIA, J. A. F. Fatores que influenciam na qualidade do suco de laranja. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 19, n.1, p. 153-60, 1999.

DELLA TORRE, J. C. M.; RODAS, M. A. B.; BADOLATO, G. G.; TADINI, C. C. Perfil sensorial e aceitação de suco de laranja pasteurizado minimamente processado. **Cienc. Tecnol. Aliment**., v. 23(2), p. 105-111, 2003.

DE LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, L. S. Avaliação da qualidade de suco de laranja industrializado. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 18, n. 1, p. 95-104, 2000.

DUBROVIC, I.; HERCEG, Z.; JAMBRAK, A. R.; BADANJAK, M.; DRAGOVIC-UZELAC, V. Effect of high intensity ultrasound and pasteurization on anthocyanin contente in strawberry juice. **Food Technol. Biotechnol**., v. 49 (2), p. 196 – 204 2011.

FALVELA, C.V. Frutas cítricas: as frutas são alimentos que oferecem uma grande variedade de sabores e aromas agradáveis. **Nutrição Brasil**, v.3, n.2, p.106-114, 2004.

FELLOWS, P., 2000. **Food Processing Technology: Principles and Practice**, 2nd ed. CRC Press, New York.

GAYÁN, E.; SERRANO, M. J.; MONFORT, S.; ÁLVAREZ, I.; CONDÓN, S. Combining ultraviolet light and mild temperatures for the inactivation of Escherichia coli in orange juice. **Journal of Food Engineering,** v.113 p. 598–605, 2012.

GERA, N.; DOORES, S. Kinetics and mechanism of bacterial inactivation by ultrasound waves and sonoprotective effect of milk components. **Journal of Food Science**, v. 76(2), p. 111-119, 2011.

GUERRERO, S.; LÓPEZ-MALO, A.; ALZAMORA, S. M. Effect of ultrasound on the survival of Saccharomyces cerevisiae: influence of temperature, pH and amplitude. **Innovative Food Science Emerging Technology**, v. 2, p. 31-39, 2001.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M.; ORSOLANI, L.; MARTÍNEZ-YÉPEZ, A.; TAPIA, M. S. Microbiological and sensory quality of sonicated calcium-added orange juice. **LWT - Food Science and Technology,** v. 43, p. 808–813, 2010.

KNORR, D.; ZENKER, M.; HEINZ, V.; LEE, D. U. Applications and potential of ultrasonics in food processing. **Trend Food Science Technology**, v. 15, p. 261-266, 2004.

LIMA FILHO, T.; TEIXEIRA, L. J. Q.; ROCHA, C. T.; FERREIRA, G. A. M.; SOUZA, M. C. Energia ionizante na conservação de alimentos: revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 243-254, 2012.

NASCIMENTO, D.; FURLANETTO, S. M. P. Determinação quantitativa de grupos de bactérias em sucos de laranja ao natural. **Rev. Saúde Pública** vl.15 n.2. 1981.

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. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. v.26 n.2. 2006.

ÖZKAN, M.; AYSEGÜL, K.; CEMEROGLU, B. Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices. **Food Chemistry**, v.88, n.4, p.591-597, 2004.

PATIST, A.; BATES, D. Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, p. 147–154, 2008.

PIYASENA, P. MOHAREB, E. MCKELLAR, R. C. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. **Journal of Food Microbiology**, v. 87 p. 207–216, 2003.

POLYDERA, A. C.; GALANOU, E.; STOFOROS, N. G.; TAOUKIS, P. S. Inactivation kinetics of pectin methylesterase of Greek Navel orange juice as a function of high hydrostatic pressure and temperature process conditions. **Journal of Food Engineering**, v. 62(3), p. 291−298. 2004.

RAMPELOTTO, C. **Pasteurização de salsichas com ultrassom e micro-ondas**. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria – RS, 2012.

SAWANT, S. S.; ANIL, A. C.; KRISHNAMURTHY, V.; GAONKAR, C.; KOLWALKAR, J.; KHANDE-PARKER, L.; DESAI, D.; MAHULKAR, A. V.; RANADE, V. V.; PANDIT, A. B. Effect of hydrodynamiccavitation on zooplankton: a tool for disinfection. **Biochemical Engineering Journal**, v. 42, p. 320–328, 2008.

SWANSON, K. M. L.; PETRAN, R. L.; HANLIN, J. L. Culture methods for enumeration of microrganisms. In**: Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 4 ed. Washington, D.C.: American Public Health Association (APHA), cap. 6, p. 53-67, 2001.

SELLI, S.; CABAROGLU, T.; CANBAS, A. Volative flavour components of orange juice obtained from the cv. Kozan of Turkey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.17, n.6, p.789-796, 2004.

SILVA, P. T.; FIALHO, E.; LOPES, M. L. M.; VALENTE-MESQUITA, V. L. Sucos de laranja industrializados e preparados sólidos para refrescos: estabilidade química e físico-química. **Ciênc. Tecnol. Aliment**., v. 25(3) p. 597-602. 2005.

SILVA, P. T.; FIALHO, E.; MIGUEL, M. A. L.; LOPES, M. L. M.; VALENTE-MESQUITA, V. L. Estabilidades química, físico-química e microbiológica de suco de laranja cv. “pera” submetido a diferentes condições de estocagem. **B.CEPPA**, v. 25, n. 2, p. 235-246. 2007.

TEREFE, N. S.; GAMAGE, M.; VILKHU, K.; SIMONS, L.; MAWSON, R.; VERSTEEG, C. The kinetics of inactivation of pectinmethylesterase and polygalacturonase in tomato juice by thermosonication. **Food Chemistry**, v. 117, p. 20-27, 2009.

TIWARI, B. K.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; O'DONNELL, C. P.; CULLEN, P. J. Inactivation kinetics of pectin methylesterase and cloud retention in sonicated orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** v. 10, p. 166–171, 2009.

VALERO, M.; RECROSIO, N.; SAURA, D.; MUÑOZ, N.; MARTÍ, N.; LIZAMA, V. Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p. 509–516, 2007.

YUSAF, T. Experimental study of microorganism disruption using shear stress. **Biochemical Engineering Journal**, v. 79, p. 7– 14, 2013.

WANG, J.; HU, X.; WANG, Z. Kinects models for the inactivation of *Alicyclobacillus acidiphilus* DSM14558^{T} and *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSM 3922^{T} in apple juice by ultrasound. **International Journal of Food Microbiology**, v. 139, p. 177-181, 2010.

WU, J.; GAMAGE, T. V.; VILKHU, K. S.; SIMONS, L. K.; MAWSON, R. Effect of thermosonication on quality improvement of tomato juice. **Innovative Food Science Emerging** Technology, v. 9, p. 186-195, 2008.

ZAFRA-ROJAS, Q. Y.; CRUZ-CANSINO, N.; RAMÍREZ-MORENO, E.; DELGADO-OLIVARES, L.; VILLANUEVA- SÁNCHEZ, R.; ALANÍS-GARCÍA, E. Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice. **Ultrasonics Sonochemistry** v. 20 p. 1283–1288, 2013.

ZHONG, M. T.; MING, X. W.; SU, P. W.; JU, Q. K. Effects of ultrasound and additives on the function and structure of trypsin. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, p. 399–404,2004.

CAPÍTULO II

EFEITO DA TERMOSSONICAÇÃO NA ATIVIDADE DA PECTINAMETILESTERASE E EM ALGUMAS CARACTERISTICAS DE QUALIDADE DE SUCO DE LARANJA

RESUMO

SCHUINA, Guilherme Lorencini **Efeito da termossonicação na atividade da pectinametilesterase e em algumas características de qualidade de suco de laranja.** 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre - ES. Orientadora: Profª. Drª. Raquel Vieira de Carvalho. Co-orientadora: Profª. Drª. Pollyanna Ibrahim Silva

O consumo de suco de frutas vem aumentando no Brasil. Entre 2002 e 2009 o consumo de sucos, sejam eles concentrados, em pó, sucos ou néctares, aumentou em 21%. O suco de laranja é considerado o suco de sabor preferido dentre as frutas. Diversos fatores podem afetar a qualidade de suco de laranja. Em relação às enzimas, a pectinametilesterase (PME) é a principal causadora de alterações em suco laranja. O método geralmente usado para inativação da pectinametilesterase no suco é a pasteurização. Devido a perdas sensoriais e nutricionais métodos não térmicos têm sido testados para inativação da PME. Dentre essas tecnologias, pode-se destacar a sonicação. Este trabalho buscou avaliar o efeito do uso conjugado de ultrassom e temperaturas medianas na redução da atividade da pectinametilesterase em amostras de suco de laranja. Além disso, foram determinados o teor de vitamina C, a cor, o pH, o teor de sólidos solúveis e a estabilidade em relação a turbidez, nas amostras submetidas aos tratamentos e realizada a comparação, tanto com amostras submetidas ao tratamento térmico, como com o suco natural. Observou-se que a aplicação da termossonicação é uma alternativa de método de conservação, permitindo uma redução significativa na atividade da pectinametilesterase e uma menor perda de vitamina C. O tratamento que apresentou melhor redução na atividade de PME foi utilizando ultrassom 40 kHz com temperatura de 60 ºC. Em relação ao ácido ascórbico, quanto menor a temperatura utilizada em conjunto com a sonicação, menor foi a perda deste composto. O teor de sólidos solúveis e o pH e a cor do suco não foram alterados ao longo do processamento.

Palavras Chave: Ultrassom, suco de laranja, conservação de alimentos

ABSTRACT

SCHUINA, Guilherme Lorencini. **Effect of thermosonication in the pectinmethylesterase activity and some quality parameters of orange juice.** 2014. Dissertation (Master's degree in Food Science and Technology) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre - ES. Adviser: Profª. Drª. Raquel Vieira de Carvalho. Co-Adviser: Profª. Drª. Pollyanna Ibrahim Silva

Consumption of fruit juice is increasing in Brazil. Between 2002 and 2009 the consumption of juice, whether concentrated, powder, juices and nectars, increased by 21 %. The orange juice is considered the favorite juice flavor among the fruits. Several factors may affect the quality of orange juice. Pectin methyl esterase (PME) is the main enzyme that causes changes in orange juice. The method generally used for inactivation of PME in the juice is pasteurization. Non-thermal methods of food preservation have been tested for inactivation of PME, because they cause lower losses in sensory and nutritional characteristics of juices. This study evaluated the effect of conjugated use of ultrasound and median temperatures in reducing the activity of PME in orange juice samples. Furthermore, we determined the content of vitamin C , color , pH, soluble solids and cloudy value in the US samples. The result was compared to samples subjected to heat treatment and the natural juice. It was observed that the application of thermossonication is an alternative method of preservation, allowing a significant reduction in the activity of PME and a minor loss of vitamin C. The treatment which showed better reduction in the activity of PME was using 40 kHz ultrasound with temperature of 60 º C. Regarding the ascorbic acid, the lower the temperature, used in conjunction with sonication, the lower the loss of this compound. The content of pH, color and soluble solids did not change throughout the process.

Keywords: Ultrasound, orange juice, food preservation.

1. INTRODUÇÃO

O consumo de suco de frutas vem aumentando no Brasil. O Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE) reporta que entre 2002 e 2009 o consumo de sucos, sejam eles concentrados, em pó, sucos ou néctares, aumentou em 21%, devendo-se ao fato de os consumidores buscarem cada vez mais uma alimentação saudável (SEBRAE, 2012).

O consumo mundial de sucos em 2009, incluindo todos os tipos, foi de 106 bilhões de litros, e cerca de 37% destes são de laranja, considerado o sabor preferido dentre as frutas (CITRUSBR, 2014).

Diversos fatores podem afetar a qualidade de suco de laranja, estes são de origem microbiológica, química, física e enzimática (CORREA NETO e FARIA, 1999). Em relação às enzimas, a pectinametilesterase (PME) é a principal causadora de alterações em suco laranja (BADOLATO, 2000).

Várias enzimas naturalmente encontradas em alimentos podem afetar a cor, o sabor e a textura dos produtos (OLIVA, 2002). A presença da PME por sua vez, está ligada a clarificação e geleificação no suco concentrado (COLLET et al., 2005). Além disso, seus efeitos estão associados ao amadurecimento de frutas (ASSIS et al., 2000), e à abscisão e senescência de frutos (REN e KERMONDE, 2000).

As PMEs são enzimas, originadas de plantas ou micro-organismos (JOLIE et al. 2009), de massa molar entre 25 kDa e 54 kDa (JOLIE et al., 2010). Catalisam reações de desmetilesterificação do ácido galacturônico presente na pectina reduzindo sua massa molar (GIOVANE et al., 2004; FONTES et al. 2008).

O método geralmente usado para inativação da PME no suco é a pasteurização (WILINSKA et al. 2012). Porém são necessárias condições mais severas de processamento para inativar esta enzima, do que para a inativação de micro-organismos deterioradores (POLYDERA et al., 2004). Tais condições podem causar perdas sensoriais no suco pasteurizado (OLIVA, 2002; DELLA TORRE, 2003; XU et al. 2011).

Com objetivo de diminuir as perdas sensoriais e em parâmetros fisíco-quimicos, técnicas utilizando tratamentos não térmicos têm sido testadas para inativação da PME. Dentre essas tecnologias, pode-se destacar a sonicação, que é a aplicação de ondas sonoras de alta intensidade sobre o alimento. O efeito da tecnologia de ultrassom sobre a inativação de pectinametilesterase vem sendo relatado em alguns estudos recentemente (TIWARI et al., 2009; TEREFE et al., 2009).

Diante do exposto, este trabalho visa avaliar o efeito do uso conjugado de ultrassom e temperaturas medianas na redução da atividade da pectinametilesterase em amostras de suco de laranja. Além disso, foram determinados o teor de vitamina C, a cor, o pH, o teor de sólidos solúveis e a estabilidade em relação à turbidez, nas amostras submetidas aos tratamentos com ultrassom e realizada a comparação com amostras submetidas ao tratamento térmico convencional e com o suco não tratado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. PREPARO DA AMOSTRA

As laranjas foram adquiridas no comércio local do município de Alegre/ES e armazenadas sob refrigeração até o momento de seu processamento em forma de suco. O processo ocorreu no Laboratório de Química de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, onde as laranjas foram lavadas em agua corrente e, em seguida, foram processadas na forma de suco, utilizando um processador de suco manual.

2.2. APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS

Os sucos foram submetidos a sete diferentes tratamentos (Tabela 3), sendo um tratamento controle (suco natural), outro tratamento suco submetido tratamento

térmico de pasteurização (90 ºC /30 seg) em banho termostático. E os demais tratamentos realizados submetendo o suco a um banho ultrassônico de 40 kHz a temperaturas que variaram entre 25 ºC e 60 ºC.

Nos tratamentos utilizando ultrassom, as amostras foram colocadas em alíquotas de 10 ml em tubo falcon (15 ml), tiveram sua temperatura elevada à temperatura de tratamento em banho termostático, e em seguida foram colocadas no banho ultrassônico (lavadora ultrassônica soniclean 2PS, Sanders) onde foram submetidas à sonicação por 10 minutos. A temperatura da amostra foi controlada com a temperatura da água do equipamento.

Tabela 3 – Codificação das amostras e tratamentos

Tratamento	Ultrassom	Temperatura
NAT	-	-
US25	40 kHz	25 ºC*
US30	40 kHz	30 ºC*
US40	40 kHz	40 ºC*
US50	40 kHz	50 ºC*
US60	40 kHz	60 ºC*
TT	-	90 ºC**

*Tratamento aplicado por 10 minutos ** tratamento aplicado por 30 seg.

2.3. ATIVIDADE DE PECTINAMETILESTERASE (PME)

A atividade de PME foi avaliada utilizando metodologia adaptada de Teixeira, Ramos e Martín-Belloso (2008). Uma alíquota de 10 ml de suco de laranja a 30 ºC foi misturada a 20 ml de uma solução de pectina (1%) e cloreto de sódio (1,5%) e incubada a 30 ºC. A solução final foi então ajustada para pH 7 utilizando NaOH 0,2N e, em seguida ajustada para pH 7,7 com uso de NaOH 0,05N.

Após atingir a condição descrita acima (pH 7,7 e 30 ºC) adicionou-se 0,1 ml de NaOH 0,05N e quantificou-se o tempo requerido para o pH voltar a 7,7. A atividade da PME (em unidades de PME) é descrita pela equação 1.

$$A = \frac{[NaOH] * V_{NaOH}}{V_{suco} * t} \quad (1)$$

Em que: [NaOH] é a concentração de NaOH, V_{NaOH} é o volume gasto de NaOH, V_{suco} é o volume de suco usado e t é o tempo (em minutos) necessário para o valor de pH retornar a 7,7.

A atividade residual de PME (porcentagem) é descrita pela equação 2.

$$AR = 100 * \frac{A_t}{A_0} \quad (2)$$

Em que: A_t é a atividade enzimática após o tratamento do suco e A_0 é a atividade enzimática inicial, ou seja, do suco fresco.

2.4. TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS

O teor de sólidos solúveis foi determinado por refratometria utilizando um refratômetro de bancada da marca DIGIT. O teor de sólidos solúveis foi expresso em ºBrix, como metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005).

2.5. PH

O pH foi determinado pelo método eletrométrico utilizando um pHmetro de bancada (modelo mPA-210 , marca Tecnopon), sendo o pH medido em amostras de 10 ml de suco (IAL, 2005).

2.6. VITAMINA C

O teor de vitamina C foi determinado segundo método da AOAC (2005) número 967.21. A metodologia consiste em reduzir uma substância colorida, o 2,6-diclorofenolindofenol em titulação com uma solução contendo ácido ascórbico.

2.7. COR

A cor foi determinada utilizando um colorímetro da marca Konica-Minolta CM-5 espectrofotométrico de reflectância e transmitância. Foi empregada a escala de cor do sistema CIEL*a*b* utilizando os parâmetros L*, a* e b*, em que L* se refere aos valores de luminosidade (0 = preto e 100 = branco), a* indica a região do vermelho (+a) ao verde (-a) e o b* indica a região do amarelo (+b) e azul (-b). Além disso, foram calculadas as o ângulo de tonalidade cromática (h*), a cromaticidade ou saturação de cor (c*) e a diferença global de cor (ΔE*) de acordo com as equações 4, 5 e 6.

$$h^* = \tan -1 \left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (4)$$

$$c^* = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})} \quad (5)$$

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

2.8. ESTABILIDADE QUANTO A TURBIDEZ

As amostras de 10 ml de suco foram centrifugadas a 1200 rpm por 30 minutos a 20 ºC. A opacidade foi medida por meio da absorvância do sobrenadante a 660 nm, utilizando água destilada como branco, com base em Versteeg et al. (1980).

2.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises foram realizadas em delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições para cada tratamento e em triplicata. Os dados dos tratamentos com ultrassom a diferentes temperaturas foram submetidos a análise de variância univariada (ANOVA) e à análise de regressão. A comparação entre os tratamentos utilizando ultrassom com o tratamento térmico convencional e o tratamento controle foi realizada por ANOVA. O teste de Tukey foi utilizado quando a ANOVA apresentou diferença estatística entre os tratamentos. Todas as análises foram realizadas ao nível de 5% de probabilidade. O programa Sistema para Análises Estatísticas SAEG (2007) foi utilizado para realizar as análises estatísticas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. ATIVIDADE DA PECTINAMETILESTERASE

Ao avaliar a atividade residual de PME em relação aos tratamentos que usaram ultrassom e temperaturas amenas de forma conjunta, percebe-se que quanto maior a temperatura utilizada, menor foi à atividade residual da PME no suco. Ficou evidenciado que o tratamento com temperatura de 25 ºC, ou seja, com efeito de conservação somente pelo ultrassom não reduziu a atividade da PME. O melhor resultado encontrado foi no tratamento utilizando ultrassom e temperatura de 60 ºC, sendo encontrada uma atividade residual de 16,5% (Figura 7).

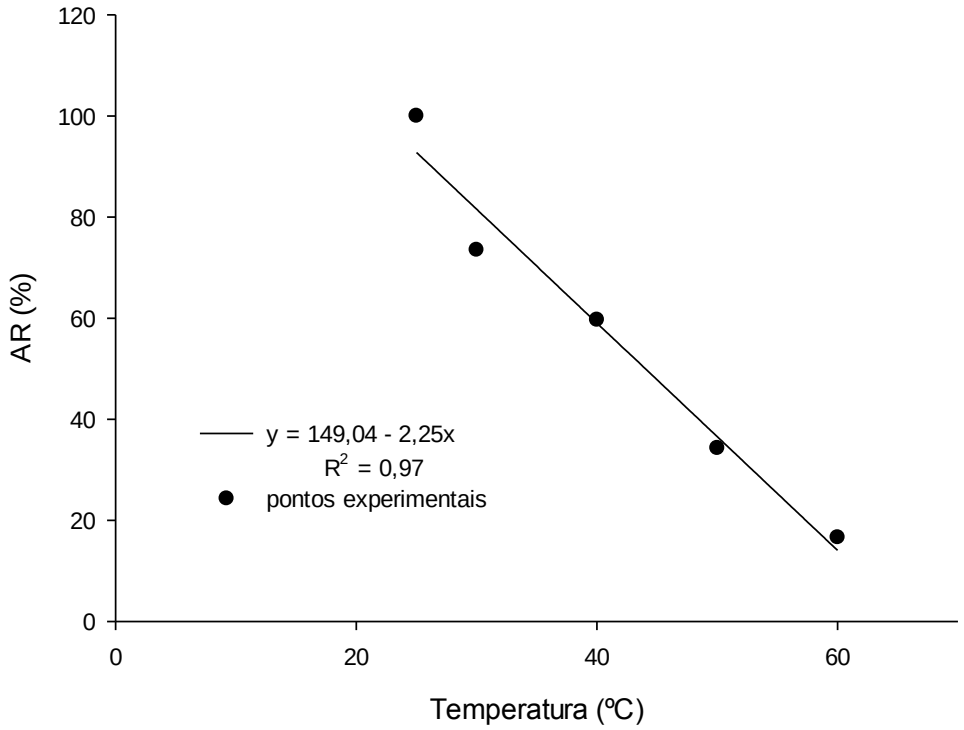


Figura 7 – Atividade residual de PME em função da temperatura utilizada em conjunto com tratamento de ultrassom.

O modelo matemático que melhor descreveu este fenômeno foi o modelo linear, com um R^2 de 0,97 indicando uma boa correlação entre os pontos experimentais e o modelo utilizado. Logo, dentro do avaliado, o tratamento utilizando ultrassom juntamente com temperatura de 60 ºC foi o que obteve o melhor resultado, para redução da atividade de pectinametilesterase, como evidenciado pelo modelo.

Comparando o resultado encontrado nas amostras submetidas aos tratamentos de ultrassom, com o suco sem tratamento e com o suco submetido a pasteurização convencional (Tabela 4), percebe-se que não existe diferença em relação à atividade residual de PME entre o suco sem tratamento e o suco processado com ultrassom a temperatura de 25 ºC. Todos os demais tratamentos mostraram certa redução na atividade residual da PME, como pode ser verificado nos tratamentos com ultrassom a 30 ºC e a 40 ºC, em que a redução foi estatisticamente igual. De forma semelhante, os tratamentos utilizando ultrassom a 50 ºC e 60 ºC obtiveram resultado estatisticamente similar.

Tabela 4 – Efeito dos tratamentos aplicados ao suco de laranja na Atividade Residual de PME e na estabilidade quanto à turbidez

Tratamentos	Atividade Residual PME (%)	Turbidez
NAT	100,00[a]	0,63 [a]
US25	100,00[a]	0,76 [a]
US30	73,50[b]	0,97 [a]
US40	59,60[b]	0,92 [a]
US50	34,20[c]	0,90 [a]
US60	16,50[cd]	1,23 [a]
TT	0,00[d]	1,09 [a]

As médias seguidas pela mesma letra, num mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Verifica-se também que a pasteurização é eficiente na inativação de pectinametilesterase no suco de laranja, alcançando uma atividade residual de 0%. No entanto, vale ressaltar que, em relação ao o resultado encontrado para amostras tratadas pelo ultrassom à temperatura de 60 ºC e amostras submetidas à pasteurização, não houve diferença significativa para a redução de pectinametilesterase. Este fato evidencia que o uso da termossonicação é uma alternativa viável à pasteurização para a indústria de suco.

Tiwari et al. (2009a) avaliaram a redução da atividade de PME em suco de laranja utilizando um equipamento de ultrassom de 20 kHz com tempos de 0, 2, 4, 6, 8 e 10 minutos e densidade de energia acústica de 0,42; 0,47; 0,61; 0,79 e 1,05 W/mL com temperaturas abaixo de 50 ºC. O melhor resultado foi observado ao se utilizar os maiores valores testados no experimento (10 min e 1,05 W/mL), em que obtiveram 62 % de redução na atividade de PME. Este resultado é próximo ao encontrado no presente experimento, ao se observar que, com ultrassom e temperatura de 50 ºC, houve uma redução de 65% na atividade da PME.

Terefe et al., (2009) estudaram o efeito da termossonicação na inativação de PME em suco de tomate, utilizando um equipamento de 20 kHz de frequência e temperaturas de 50 ºC a 75 ºC. Os autores observaram que apenas o emprego do

tratamento térmico causou pouco efeito na inativação de PME em temperaturas de até 60 ºC. Ao se aplicar conjuntamente temperatura e ultrassom observou-se um efeito sinergístico, levando a uma elevação de 6 vezes na taxa de inativação da PME na temperatura de 60 ºC.

Raviyan et al. (2005) e Wu et al. (2008) também estudaram o efeito do uso do ultrassom para inativação de PME em extrato de tomate. Os autores observaram o mesmo efeito sinergístico, quando aplicado ultrassom juntamente com tratamento térmico.

Vecet, Lopes e Burgos (1997) pesquisaram sobre a inativação de PME em suco de laranja por manotermossonicação. O valor D para PME em suco de laranja foi significativamente reduzido ao se utilizar conjuntamente o ultrassom e alta pressão, fato este que pode ser atribuído mais uma vez ao efeito sinergístico do ultrassom com outros métodos de conservação.

O ultrassom atua na enzima devido a processos mecânicos e químicos induzidos pela cavitação (BARTERI et al., 2004; ZHONG et al., 2004). Snir et al. (1995) e Lopez et al. (2008) relataram que o efeito da termossonicação na inativação de PME é mais pronunciado quando se utilizam temperaturas menores. O'Donnell et al. (2010) citam que uma explicação para esse efeito é devido as temperaturas mais elevadas aumentarem a pressão de vapor no interior das bolhas provocando um efeito de amortecimento, diminuindo a eficiência do colapso das bolhas na cavitação.

Pelos resultados encontrados, ficou evidenciado, como já descrito na literatura (TIWARI et al., 2009a), que o ultrassom utilizado de forma única não é capaz de inativar completamente a pectinametilesterase em suco. Além disso, deve-se destacar que essa tecnologia apresenta efeito de inativação mais pronunciado para algumas enzimas, e já não apresenta efeito tão aparente para outras (KADKHODAEE e POVEY, 2008; O'DONNELL et al., 2010).

Assim, o uso da termossonicação no processamento de suco, pode ser uma alternativa viável para substituir o tratamento térmico convencional, uma vez que apresenta resultados satisfatórios na inativação de PME.

3.2. ESTABILIDADE QUANTO A TURBIDEZ

A pedra de turbidez (*cloud*) em suco ocorre geralmente devido à precipitação iniciada pela PME (CAMERON et al., 1998). Em relação a esta característica, não foi encontrada diferença significativa para a estabilidade quanto a turbidez para as amostras testadas (Tabela 4). Logo, esta perda foi constante em todas as situações avaliadas no experimento. Também não se obteve nenhuma correlação entre a estabilidade da turbidez e a temperatura utilizada conjuntamente com o ultrassom, sendo o valor desta variável praticamente constante.

Frequentemente é relatada na literatura uma maior estabilidade da turbidez dos sucos tratados por ultrassom. Twiari et al. (2009a) perceberam um aumento na estabilidade das amostras de suco de laranja tratadas com ultrassom quando comparadas à amostra controle (sem tratamento). Abid et al. (2013) também observaram que à sonicação aumentou significativamente a estabilidade de suco de maçã em relação à amostra controle.

Os autores relataram que esse efeito de estabilidade é causado devido ao alto gradiente de pressão formado durante a cavitação, que leva a uma desintegração coloidal, desintegração de macromoléculas em moléculas menores, o que torna o suco mais homogêneo.

3.3. TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS, PH E COR

Os valores encontrados no estudo para o teor de sólidos solúveis, pH e cor das amostras de suco de laranja submetidas aos tratamentos, não diferiram estatisticamente, como apresentado na Tabela 5 e 6. Além disso, não foi possível obter nenhum modelo que representasse a variação dessas variáveis em relação à temperatura utilizada em conjunto com o tratamento de ultrassom. Os valores encontrados no experimento para as variáveis em estudo permaneceram estatisticamente constantes após a aplicação dos tratamentos realizados neste estudo.

Tabela 5 – Efeito dos tratamentos aplicados ao suco de laranja no Teor de Sólidos Solúveis e pH.

Tratamentos	Sólidos Solúveis (ºBrix)	pH
NAT	9,83[a]	3,33 [a]
US25	9,92 [a]	3,32 [a]
US30	9,92 [a]	3,31 [a]
US40	9,92 [a]	3,31 [a]
US50	9,92 [a]	3,33 [a]
US60	9,92 [a]	3,30 [a]
TT	9,92 [a]	3,28 [a]

As médias seguidas pela mesma letra, num mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tiwari et al. (2009b) não observaram alterações no teor de sólidos solúveis e no pH, para sucos de laranja submetidos a sonicação. Da mesma forma, Abid et al. (2013) e Zafra-Rojas et al. (2013) também não notaram mudanças nessas duas características ao avaliar a sonicação no suco de maçã e em palma forrageira, respectivamente.

Comparando as três variáveis (cor, pH e teor de sólidos solúveis) entre o suco natural e com o suco pasteurizado, percebe-se também que nenhum deles foi significativamente afetado. Valero et al. (2007), ao observarem a variação na cor de suco de laranja submetido a sonicação, também verificaram que o tratamento não teve efeito sobre a cor do suco de laranja, nas condições por ele testadas.

Tiwari et al. (2009b) notaram alteração da cor do suco de laranja submetido a sonicação. Os autores remetem o fato à cavitação, que propicia várias reações físicas, químicas ou biológicas, como aumento na velocidade reações químicas, podendo causar mudanças na cor.

Tabela 6 **–** Efeito dos tratamentos na cor do suco de laranja.

Tratamentos	Cor					
	L*	**a***	**b***	**h***	**c***	**ΔE***
NAT	20,05[a]	8,74 [a]	31,66 [a]	15.43 [a]	32,84 [a]	------
US25	22,00[a]	8,65 [a]	34,03 [a]	14.26 [a]	35,11 [a]	3,33
US30	21,70[a]	8,38 [a]	33,10 [a]	14.20 [a]	34,14 [a]	2,21
US40	21,46[a]	8,17 [a]	32,99 [a]	13.90 [a]	33,98 [a]	2,02
US50	20,09[a]	8,29 [a]	31,52 [a]	14.73 [a]	32,59 [a]	0,47
US60	21,35[a]	8,13 [a]	33,13 [a]	13.78 [a]	34,11 [a]	2,05
TT	21,81[a]	7,77 [a]	33,74 [a]	12.96 [a]	34,62 [a]	2,89

As médias seguidas pela mesma letra numa mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Gómez-López et al. (2010) também observaram alterações na cor do suco de laranja submetido à sonicação. As amostras tornaram-se mais claras, verdes e amarelas, porém os autores relataram que estas mudanças não foram percebidas sensorialmente.

Vale ressaltar que os carotenoides, pigmentos mais comuns encontrados na laranja, são moderadamente estáveis a altas temperaturas, sendo suscetíveis a perdas por oxidação (FENNEMA, DAMODARAM e PARKIN, 2010). Fato esse que pode explicar alguma mudança de cor observada em outros trabalhos.

3.4. VITAMINA C

A vitamina C é outra característica muito importante para se avaliar a qualidade do suco de laranja, visto que o mesmo é reconhecido como uma importante fonte deste nutriente. Percebe-se, neste estudo, que, quanto maior foi a temperatura utilizada em conjunto com o tratamento ultrassom, maior foi também a perda de vitamina C no suco (Figura 8). Mais uma vez, o modelo linear representou de forma satisfatória este fenômeno, apresentando um $R^2 = 0,84$.

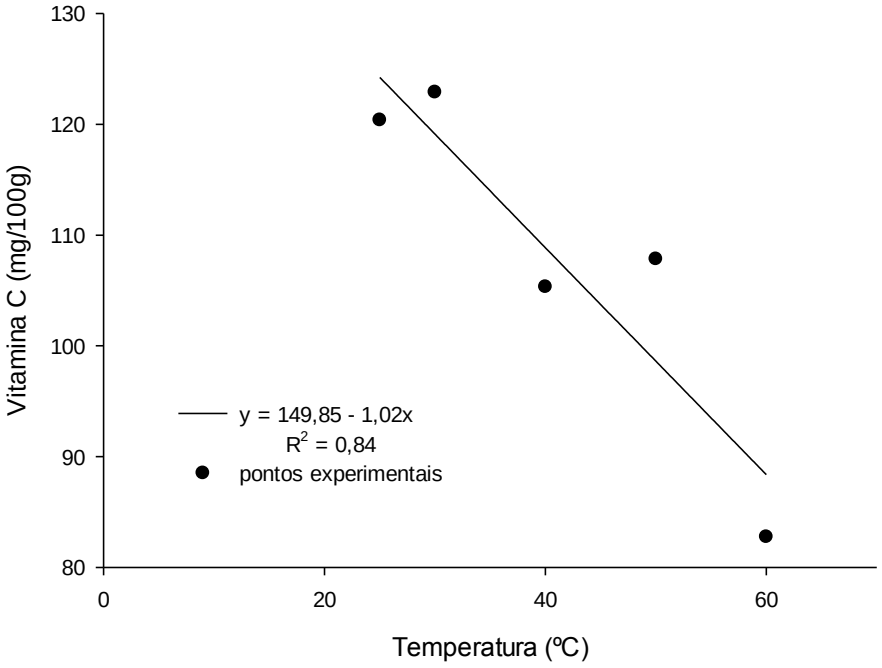


Figura 8 – Teor de vitamina C em função da temperatura utilizada em conjunto com tratamento de ultrassom.

Comparando o teor de vitamina C obtido nos tratamentos utilizando ultrassom com os obtidos no suco natural (Tabela 7), observa-se que as amostras submetidas aos tratamentos de ultrassom com temperatura de 25 e 30 ºC não apresentaram diferença significativa quanto ao teor de vitamina C ao se comparar com o encontrado no suco natural. Os demais tratamentos proporcionaram diminuição deste nutriente. O tratamento com ultrassom e temperatura de 60 ºC foi o que apresentou maior perda, cerca de 39% a menos de vitamina C do que encontrado no suco de laranja natural.

Tabela 7 – Efeito dos tratamentos aplicados ao suco de laranja no Teor de Vitamina C

Tratamentos	**Vitamina C**

	(mg/ 100g)
NAT	135,43[a]
US25	120,38[ab]
US30	122,89[ab]
US40	105,33[b]
US50	107,84[b]
US60	82,76[c]
TT	80,25[c]

As médias seguidas pela mesma letra, num mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Ao se comparar o teor de vitamina C das amostras submetidas aos tratamentos com ultrassom em relação à amostra pasteurizada, tem-se que a perda de vitamina C entre a amostra submetida a 60 ºC não foi estatisticamente diferente em relação à redução de ácido ascórbico obtida na pasteurização. Todos os demais tratamentos obtiveram uma menor redução do teor de vitamina C do que o tratamento térmico. Assim, observa-se que que a utilização da termossonicação, dependendo da temperatura utilizada em conjunto com ultrassom é uma opção de se proporcionar a conservação do suco, aumentando o teor de ácido ascórbico retido.

Valdramides et al. (2010) ao processar suco de laranja com um equipamento de ultrassom de 20 kHz, em condições diferentes de amplitude, temperatura e tempo de processo, observaram mudança significativa no teor de vitamina C das amostras tratadas com ultrassom, em relação ao suco natural. A maior perda foi ao se utilizar a maior temperatura testada no experimento (30 ºC), levando uma perda de 15% no teor de ácido ascórbico em relação ao suco não processado. Tem-se ainda que com o aumento da temperatura, aumenta-se a perda de vitamina C.

Gómez-López et al. (2010) avaliaram a degradação de ácido ascórbico utilizando um ultrassom de 20 kHz. Os autores perceberam que a degradação do ácido ascórbico por ultrassom é dependente do tempo de processo. Tiwari et al. (2009c) e Adekunte et al. (2010) também encontraram resultados semelhantes ao de

Gomez Lopez et al. (2010) e Valdramides et al. (2010) para suco de laranja e tomate, respectivamente.

Tiwari et al., (2009b) concluíram que, ao longo do armazenamento, as amostras de suco de laranja submetidas ao tratamento com ultrassom obtiveram uma maior retenção de vitamina C quando comparadas com a amostra sem trstamento.

Quando se aplica ultrassom em sistemas líquidos, vários efeitos podem ser percebidos, como efeito térmico com a implosão das bolhas, tensão mecânica produzida pela onda, e formação de radicais livres. Em relação à degradação de vitamina C o mecanismo mais provável de degradação é a formação de radicais livres, que irão propiciar a oxidação do ácido ascórbico (PORTENLÄNGER e HEUSINGER 1992; VERCET et al., 2001).

Por outro lado, Cheng et al. (2007), Bhat et al. (2011), Aadil et al. (2013) e Abid et al. (2013) observaram um acréscimo significativo no teor de ácido ascórbico nas amostras tratadas com ultrassom para sucos de toranja, maçã, limão e goiaba respectivamente. Todos os autores relacionaram este fato à eliminação do oxigênio dissolvido, que é fundamental para a degradação de ácido ascórbico durante a cavitação.

4. CONCLUSÃO

Observou-se que a aplicação de tratamentos como a termossonicação é uma alternativa de método de conservação, permitindo uma redução significativa na atividade de pectinametilesterase em suco de laranja e uma menor perda de vitamina C.

O tratamento que apresentou melhor redução na atividade de PME foi aquele utilizando a frequência de 40 kHz com temperatura de 60 ºC. Em relação ao ácido

ascórbico, quanto menor a temperatura utilizada em conjunto com a sonicação, menor foi a perda deste composto.

O teor de sólidos solúveis e o pH do suco não foram alterados ao longo do processamento. A alteração da cor e o teor de vitamina C devem ser melhores estudados, visto que a alteração nestes parâmetros ainda não está bem elucidada.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AADIL, R. M.; ZENG, X.; ZHONG HAN, Z.; SUN, D. Effects of ultrasound treatments on quality of grapefruit juice. **Food Chemistry**, v. 141, p. 3201–3206, 2013.

ABID, M.; JABBAR, S.; WU, T.; HASHIM, M. M.; HU, B.; LEI, S.; ZHANG, X.; ZENG, X. Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20 p. 1182–1187, 2013.

ADEKUNTE, A. O.; TIWARI, B. K.; CULLEN, P. J.; SCANNELL, A. G. M.; O'DONNELL, C. P. Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. **Food Chemistry**, v. 122, p. 500–507, 2010.

ASSIS, S. A.; LIMA, D. C.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Acerola´s pectin methyl esterase: studies of heat inactivation. **Food Chemistry,** v. 71, p. 465-467, 2000.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists**. 18.ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.

BADOLATO, G. G. **Tratamento Térmico minimo em suco de laranja natural: cinética de inativação da pectinesterase**. Dissertação (Mestre em Engenharia Quimica). Universidade de São Paulo – SP. 2000.

BARTERI, M.; DIOCIAIUTI, M.; PALA, A.; ROTELLA, S. Low frequency ultrasound induces aggregation of porcine furnarase by free radicals production. **Biophysical Chemistry**, v. 111, p. 35–42, 2004.

BHAT, R.; KAMARUDDIN, N. S. B. C.; MIN-TZE, L.; KARIM, A. A. Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality, Ultrason. Sonochem. V. 18 p. 1295–1300, 2011.

CAMERON, R. G.; BAKER, R. A.; GROHMANN, K. Multiple forms of pectinmethylesterase from citrus peel and their effects on juice cloud stability. **Journal of Food Science**, v. 63, p. 253−256, 1998.

CHENG, L. H.; SOH, C. Y.; LIEW, S. C.; TEH, F. F. Effects of sonication and carbonation on guava juice quality. **Food Chemistry**, v. 104 (4), p. 1396–1401, 2007.

CITRUSBR. **Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos.** Disponivel em: < http://www.citrusbr.com/> Acesso em: 01/02/2014.

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.

CORREA NETO, R. S.; FARIA, J. A. F. Fatores que influenciam na qualidade do suco de laranja. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 19, n.1, p. 153-60, 1999.

DELLA TORRE, J. C. M.; RODAS, M. A. B.; BADOLATO, G. G.; TADINI, C. C. Perfil sensorial e aceitação de suco de laranja minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de alimentos**, v. 23(2), p. 105-111, 2003.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema** – 4ª ed. - Editora Artmed, 2010.

FONTES, R. V.; SANTOS, M. P.; FALQUETO, A. R.; SILVA, D. M. Atividade da pectinametilesterase e sua relação com a perda de firmeza da polpa de mamão cv. Sunrise solo e tainung. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 054-058, 2008.

GIOVANE, A.; SERVILLO, L.; BALESTRIERI C.; RAIOLA, A.; D'AVINO, R.; TAMBURRINI, M.; CIARDIELLO, M. A.; CAMARDELLA, L. Pectin methylesterase inhibitor. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1696, p. 245–252. 2004.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M. ORSOLANI, L. MARTÍNEZ-YÉPEZ, A. TAPIA, M. S. Microbiological and sensory quality of sonicated calcium-added orange juice. **LWT - Food Science and Technology.** v. 43, p. 808–813, 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. 1. ed. digital. São Paulo, SES - CCD –IAL, 2005.

JOLIE, R. P.; DUVETTER, T.; HOUBEN, K.; CLYNEN, E.; SILA, D. N.; LOEY, A. M. V.; HENDRICKX, M. E. Carrot pectin methylesterase and its inhibitor from kiwi fruit: Study of activity, stability and inhibition. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, p. 601–609, 2009.

JOLIE, R. P.; DUVETTER, T.; LOEY, A. M. V.; HENDRICKX, M. E. Pectin methylesterase and its proteinaceous inhibitor: a review. **Carbohydrate Research**, v. 345, p. 2583–2595, 2010.

KADKHODAEE, R.; POVEY, M. J. W. Ultrasonic inactivation of Bacillus α-amylase I. Effect of gas content and emitting face of probe. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15(2), p. 133-142, 2008.

LOPEZ, P.; VERCET, A.; SANCHEZ, A. C.; BURGOS, J. Inactivation of tomato pectic enzymes by manothermosonication. **Z. Lebensm. Unters. Forsch**., v. 207 , p. 249-252, 1998.

O'DONNELL, C. P.; TIWARI, B. K.; BOURKE, P.; CULLEN, P. J. Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, p. 358-367, 2010.

OLIVA, P. B. **Influência das variedades citricas (*Citrus sinensis L. Osbeck*) natal, pêra-rio e valência na qualidade do suco de laranja pasteurizado**. Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas – SP. 2002

POLYDERA, A. C.; GALANOU, E.; STOFOROS, N. G.; TAOUKIS, P. S. Inactivation kinetics of pectin methylesterase of Greek Navel orange juice as a function of high hydrostatic pressure and temperature process conditions. **Journal of Food Engineering**, v. 62(3), p. 291−298. 2004.

PORTENLANGER, G., HEUSINGER, H. Chemical reactions induced by ultrasound and gamma-rays in aqueous solutions of L-ascorbic acid. **Carbohydrate Research** v. 232 (2), p. 291–301, 1992.

RAVIYAN, P.; ZHANG, Z.; FENG, H. Ultrasonication for tomato pectinmethylesterase inactivation: Effect of cavitation intensity and temperature on inactivation. **Journal of Food Engineering**, v. 70, p. 189–196, 2005.

REN, C.; KERMONDE, A. R. An increase in pectin methyl esterase activity accompanies dormancy breakage and germination of yellow cedar seeds. **Plant Physiology**. v. 124, n. 1, p. 231-242, 2000.

SEBRAE. **Consumo de suco cresce no Brasil**. Disponivel em:< http://www.sebrae.com.br/setor/fruticultura/osetor/mercado/panorama/integra_bia/ident_unico/18283 >. Acesso em: 18/09/2013.

SNIR, R.; KOEHLER, P. E.; SIMS, K. A.; WICKER, L. pH and cations influence permeability of marsh white grapefruit pectinest-erase on polysulfone ultrafiltration membrane. **J. Agric. Food Chem**., v. 43, p. 1157-116, 1995.

TEIXEIRA, L. J. Q.; RAMOS, A. M.; MARTÍN-BELLOSO, O. Avaliação durante a estocagem do suco de cenoura processado por campos elétricos pulsados de alta intensidade (cepai) e por tratamento térmico. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.10, n.2, p.149-162, 2008.

TEREFE, N. S.; GAMAGE, M.; VILKHU, K.; SIMONS, L.; MAWSON, R.; VERSTEEG, C. The kinetics of inactivation of pectin methylesterase and polygalacturonase in tomato juice by thermosonication. **Food Chemistry**, v. 117, p. 20–27, 2009.

TIWARI, B. K.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; O'DONNELL, C. P.; CULLEN, P.J. Inactivation kinetics of pectin methylesterase and cloud retention in sonicated orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, p. 166–171. 2009a.

TIWARI, B. K.; O'DONNELL, C. P.; MUTHUKUMARAPPAN, K. Effect of low temperature sonication on orange juice quality parameters using response surface methodology. **Food and Bioprocess Technology**, v. 2 (1), p. 109–114, 2009b.

TIWARI, B. K.; O'DONNELL, C. P.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; CULLEN, P. J. Effect of sonication on orange juice quality parameters during storage. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44 (3), p. 586-595, 2009c.

VALDRAMIDIS, V. P.; CULLEN, P. J.; TIWARI, B. K.; O'DONNELL, C. P. Quantitative modelling approaches for ascorbic acid degradation and non-enzymatic growning of orange juice during ultrasound processing. **Journal of Food Engineering,** v. 96, p. 449–454, 2010.

VALERO, M.; RECROSIO, N.; SAURA, D.; MUNOZ, N.; MARTIC, N.; LIZAMA, V. Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p. 509–516, 2007.

VECET, A.; LOPEZ, P.; BURGOS, J. Inactivation of heat-resistant lipase and protease from Pseudomonas fluorescens by mano-thermosonication. **J. Dairy Sci**., v. 80, p. 29-36, 1997.

VERCET, A.; BURGOS, J.; LOPEZ-BUESA, P. Manothermosonication of foods and food-resembling systems: effect on nutrient content and nonenzymatic browning. **J. Agric. Food Chem.,** v. 49 (1), p. 483–489, 2001.

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. 969–971, 1980.

XU, Z.; ZHANG, L.; WANG, Y.; BI, X.; BUCKOW, R.; LIAO, X. Effects of high pressure O2 treatments on microflora, enzymes and some quality attributes of apple juice. **Journal of Food Engineering**, v. 104, p. 577–584. 2011.

WILINSKA, A.; RODRIGUES, A. S. F.; BRYJAK, J.; POLAKOVIC, M. Thermal inactivation of Exogenous pectin methylesterase in apple and cloudberry juices. **Journal of Food Engineering**, v. 85, p. 459–465, 2008.

WU, J.; GAMAGE, T. V.; VILKHU, K. S.; SIMONS, L. K.; MAWSON, R. Effect of thermosonication on quality improvement of tomato juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, p. 186–195, 2008.

ZAFRA-ROJAS, Q. Y.; CRUZ-CANSINO, N.; RAMÍREZ-MORENO, E.; DELGADO-OLIVARES, L.; VILLANUEVA- SÁNCHEZ, R.; ALANÍS-GARCÍA, E. Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice**. Ultrasonics Sonochemistry,** v. 20, p. 1283–1288, 2013.

ZHONG, M. T.; MING, X. W.; SU, P. W.; JU, Q. K. Effects of ultrasound and additives on the function and structure of trypsin. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, p. 399–404, 2004.

CAPÍTULO III

ANÁLISE SENSORIAL DE SUCO DE LARANJA SUBMETIDO À TERMOSSONICAÇÃO

RESUMO

SCHUINA, Guilherme Lorencini. **Análise sensorial de suco de laranja submetido à termossonicação.** 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre - ES. Orientadora: Profª. Drª. Raquel Vieira de Carvalho. Co-orientadora: Profª. Drª. Pollyanna Ibrahim Silva

O Brasil é o maior produtor de laranja do mundo. Cerca de 70% das laranjas produzidas são destinadas à produção de suco. Devido ao seu sabor agradável e doce, e a seu valor nutricional, o suco de laranja é o suco mais comum fabricado pela indústria de processamento de bebidas. Apesar de ser o maior produtor mundial de suco, o Brasil é apenas o décimo país entre os maiores consumidores do mesmo. Este fato se dá, pois o consumidor brasileiro está habituado ao suco fresco, que possui melhores características de aroma e sabor. A pasteurização e a esterilização comercial são os métodos de conservação mais comuns utilizados para inativar enzimas e micro-organismos, porém podem causar efeitos adversos em relação às características sensoriais (cor, sabor, aroma) dos produtos. Neste contexto, surgem os métodos não térmicos de conservação de alimentos, dentre os quais, o uso de ultrassom. As vantagens da utilização do ultrassom sobre a pasteurização térmica incluem a minimização da perda de sabor, uma maior homogeneidade e economia significativa de energia. Os possíveis efeitos dos tratamentos como o ultrassom sobre a qualidade sensorial dos alimentos são muito importantes quando se avalia o seu potencial para a conservação de alimentos. Este estudo buscou avaliar a aceitação sensorial de suco de laranja submetido à termossonicação (40 kHz, 60 ºC, 10 min), comparando com a aceitação do suco natural e do suco pasteurizado. Além disso, buscou-se avaliar se existe diferença sensorial entre o suco submetido à termossonicação e o suco natural. Verificou-se que a aceitação da cor do suco pelos consumidores não foi influenciada por nenhum tratamento. Em relação ao aroma, ao sabor e à aceitação global, o suco submetido à termossonicação obteve aceitação sensorial superior à encontrada pelo suco pasteurizado, mostrando que a termossonicação é uma alternativa para a conservação de suco de laranja, em relação à aceitação sensorial do produto pelo consumidor.

Palavras Chave: Ultrassom, suco de laranja, análise sensorial

ABSTRACT

SCHUINA, Guilherme Lorencini. **Sensory analysis of orange juice treated by thermosonication.** 2014. Dissertation (Master's degree in Food Science and Technology) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre - ES. Adviser: Profª. Drª. Raquel Vieira de Carvalho. Co-Adviser: Profª. Drª. Pollyanna Ibrahim Silva

Brazil is the biggest producer of oranges in the world. About 70 % of oranges produced are intended for juice production. Because of its pleasant and sweet flavor, and nutritional value, the orange juice is the most common juice manufactured by beverage processing industry. Despite being the world's largest juice producer, Brazil is only the tenth country among the tenth largest consumer of the beverage . This fact occurs because the Brazilian consumer is accustomed to fresh juice, which has better characteristics of aroma and flavor. Pasteurization and commercial sterilization are the most common preservation methods used to inactivate enzymes and microorganisms, but they can cause adverse effects in relation to the sensory characteristics (color, flavor, aroma) of the products. This fact, explain the development of the non-thermal methods of food preservation, and the use of ultrasound is one with great potential. The advantages of using the ultrasound in spite of thermal pasteurization include minimizing the loss of flavor, greater homogeneity and significant energy savings. The possible effects of treatments such as ultrasound on the sensory quality of food are very important when assessing its potential for food preservation. This study evaluated the sensory acceptance of orange juice submitted to thermosonication (40 kHz , 60 ° C , 10 min) , compared with the acceptance of natural juice and pasteurized juice. Furthermore, this study aimed to evaluate the sensory difference between thermosonicated and natural juice. It was found that the color acceptance by the consumers was not affected by any treatment. Sensory acceptance of aroma, flavor and overall acceptance of thermosonicated juice were higher than that of pasteurized juice, showing that thermosonication is an alternative for preservation of orange juice in relation to its sensory acceptance by the consumers.

Keywords: Ultrasound, orange juice, sensory analysis.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de laranja do mundo. O cultivo da laranja está presente em todos os estados brasileiros, e conta com uma área plantada de 800 mil ha. De toda produção brasileira, vale ressaltar que cerca de 70% das laranjas produzidas são destinadas a produção de suco (CITRUSBR, 2014).

Devido ao seu sabor agradável e doce, e a seu valor nutricional, suco de laranja é o suco mais comum fabricado pela indústria de processamento de bebidas (CINQUANTA et al., 2010). Silva et al., (2005) relataram que o suco de laranja é considerado uma das melhores fontes de vitamina C, com uma demanda maior deste suco por consumidores que buscam uma alimentação saudável.

O Brasil detém 50% da produção mundial de suco de laranja, e exporta 98% do que produz, conseguindo 85% de participação no mercado mundial (NEVES et al., 2010). Apesar de ser o maior produtor mundial de suco, o Brasil é apenas o décimo país entre os maiores consumidores do mesmo (CITRUSBR, 2014).

O mercado interno de suco industrializado no Brasil está relacionado basicamente ao comércio do suco de laranja pasteurizado, visto que o suco de laranja concentrado e congelado e o suco reconstituído são rejeitados pelo consumidor brasileiro, pois o mesmo, já está habituado ao suco fresco, que possui melhores características de aroma e sabor (TRIBESS, 2003). A facilidade de obtenção do suco de laranja “fresco” é um fator preponderante para limitar o consumo do suco de laranja industrializado no país (DE LIMA, MÉLO e LIMA 2000).

A pasteurização e a esterilização comercial são os métodos de conservação mais comuns utilizados para inativar enzimas e micro-organismos, porém podem alterar o alimento de maneira indesejada (WANG, HU e WANG, 2010). Estes métodos apresentam efeitos adversos em relação às características sensoriais (cor, sabor, aroma) e nutricionais dos produtos.

Existe uma demanda crescente por parte dos consumidores por alimentos que apresentem características sensoriais e nutritivas mais próximas àquelas

encontradas naturalmente, ou seja, características do produto não processado (DEDE et al., 2007; LIMA FILHO et al., 2012).

Diante disto, é crescente a busca por métodos de conservação alternativos ao tratamento térmico, buscando a obtenção de produtos com características cada vez mais “naturais”. Nogueira (2010) relata que desenvolvimento de novas tecnologias para a indústria de alimentos deve considerar que o processo seja seguro e que mantenha as propriedades nutricionais e sensoriais.

Neste contexto, surgem os métodos não térmicos de conservação de alimentos (ZHONG et al., 2005), dentre os quais, o uso de ultrassom. A utilização de ultrassom para conservar alimentos é uma das tecnologias não térmicas consideradas mais promissoras (CONDÓN, RASO e PAGÁN, 2000). Crosby, (1982) cita que as vantagens da utilização do ultrassom sobre a pasteurização térmica incluem a minimização da perda de sabor, uma maior homogeneidade e economia significativa de energia.

Os ultrassons são ondas acústicas, com frequência acima do limiar de audição humana (acima de 20 kHz). Essas ondas passam através de um material com velocidade característica da onda e do material em que está sendo propagado (SILVA, 2012).

Os testes sensoriais utilizam os sentidos humanos como “instrumentos” de medida. A avaliação sensorial deve fazer parte da garantia de qualidade do produto por determinar importantes aspectos sobre o produto, por exemplo, a aceitação de um produto por parte dos consumidores (CARDELLO e CARDELLO, 1998).

Várias características podem influenciar as atitudes do consumidor perante um alimento, estas características podem ser sensoriais, como aparência, aroma, sabor, textura, como também características não sensoriais, e pela interação destas duas características (DELLA LUCIA et al., 2010).

Os possíveis efeitos dos tratamentos como o ultrassom sobre a qualidade sensorial dos alimentos são muito importantes quando se avalia o seu potencial para a conservação de alimentos.

Diante disto, no presente estudo buscou-se avaliar a aceitação sensorial de suco de laranja submetido à termossonicação (40 kHz, 60 ºC, 10 min), comparando com a aceitação do suco natural e do suco pasteurizado. Além disso, este trabalho buscou avaliar se existe diferença sensorial perceptível entre o suco submetido a termossonicação e o suco natural.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. PREPARO DA AMOSTRA

As laranjas foram adquiridas no comércio local do município de Alegre/ES e foram armazenadas sob refrigeração até o momento de seu processamento em forma de suco, que se deu no Laboratório de Tecnologia de Produtos Agrícolasdo Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), onde as laranjas foram lavadas em água corrente e, em seguida, foram processadas na forma de suco, utilizando um processador de suco manual.

2.2. APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS

O suco foi dividido em três porções diferentes, uma amostra de suco sem tratamento, uma amostra de suco submetido à pasteurização convencional (90 ºC por 30 segundos) e uma terceira submetida a termossonicação (40 kHz, 60 ºC, 10 minutos). Todas as amostras foram mantidas refrigeradas até o momento da análise sensorial

2.3. ANÁLISE SENSORIAL

Os testes sensoriais de aceitação e teste triangular foram realizados no laboratório de Análise Sensorial do CCA-UFES, em cabines individuais e sob luz branca.

2.3.1. Teste triangular

O teste triangular foi realizado com 44 julgadores, para os quais foram servidas simultaneamente e em ordem aleatória três amostras de suco codificadas com números aleatórios de três dígitos, juntamente com a ficha de resposta (Figura 9). Os julgadores foram instruídos a assinalar a amostra que lhes parecia diferente. Para a análise utilizou-se a amostra de suco sem tratamento e a tratada por termossonicação. Esse teste indica se existe diferença significativa entre duas amostras que sofreram processos diferentes (STONE; SIDEL, 1993).

Nome:_____ **Data:**_____

Você está recebendo três amostras codificadas, sendo duas iguais e uma diferente. Identifique com um círculo a amostra diferente. Enxague a boca após a degustação de cada amostra e espere 30 segundos.

_____ _____ _____

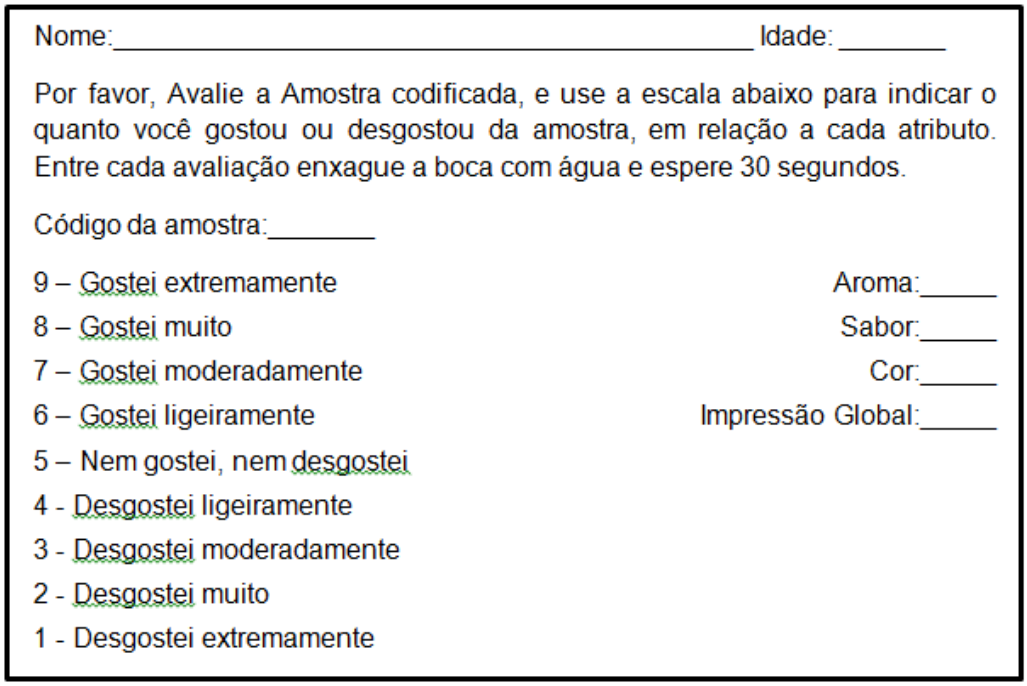
Comentários: _____

Figura 9 – Ficha utilizada no Teste Triangular (Baseado em: ISO, 2004)

2.3.2. Teste de Aceitação

O teste de aceitação sensorial (REIS e MINIM, 2010) dos sucos foi realizado utilizando-se escala hedônica de 9 pontos (9 = gostei extremamente e 1 = desgostei

extremamente) para avaliar os atributos aroma, sabor, cor e aceitação global (Figura 10). Participaram do teste 65 julgadores não treinados que receberam as três amostras de forma monádica, codificadas com três dígitos e em ordem casualizada, e um copo com água, à temperatura ambiente, para enxaguar a boca antes de cada avaliação.


Nome:_____ Idade: _____

Por favor, Avalie a Amostra codificada, e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou da amostra, em relação a cada atributo. Entre cada avaliação enxague a boca com água e espere 30 segundos.

Código da amostra:_____

9 – Gostei extremamente
8 – Gostei muito
7 – Gostei moderadamente
6 – Gostei ligeiramente
5 – Nem gostei, nem desgostei
4 - Desgostei ligeiramente
3 - Desgostei moderadamente
2 - Desgostei muito
1 - Desgostei extremamente

Aroma:_____
Sabor:_____
Cor:_____
Impressão Global:_____

Figura 10 – Ficha utilizada nos testes de aceitação da sessão (Baseado em: Reis e Minim, 2010).

2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística do teste triangular foi realizada por meio da soma do número de respostas corretas obtidas nos testes realizados pelos 44 julgadores. O valor obtido foi comparado com um valor crítico tabelado que representa o número mínimo de respostas corretas para que se possa concluir se existe diferença significativa entre as amostras (ROESSLER et al, 1978). Utilizando um nível de significância de 5% o numero de respostas corretas necessário para se concluir que as amostras são diferentes é 21.

Para o teste de aceitação foi realizada uma ANOVA. O teste de Tukey foi utilizado quando a ANOVA apresentou diferença estatística entre os tratamentos. Em todas análises foi utilizado o nível de 5% de probabilidade. O programa Sistema para Análises Estatísticas, SAEG (2007), foi utilizado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aplicação de métodos alternativos de conservação de alimentos visa obter um produto seguro à saúde do consumidor, porém com características sensoriais mais próximas àquelas encontradas no produto 'in natura'. Devido a isto, foi realizado o teste triangular comparando o suco de laranja submetido à termossonicação e o suco sem tratamento. O teste foi realizado com 44 julgadores, de faixa etária entre 18 e 29 anos, e 72% do sexo feminino. Dentre os julgadores 28 identificaram a amostra diferente, logo se percebe que os consumidores perceberam a diferença entre o suco sem tratamento e o suco submetido ao ultrassom e temperatura de 60 ºC.

Moshonas e Shaw (1997) ao realizarem um teste de diferença entre amostras de suco sem tratamento e amostras de suco submetidas a tratamento térmico brando e drástico, também obtiveram como resultado que os sucos submetidos aos tratamentos eram diferentes da amostra sem tratamento.

O teste de aceitação foi realizado com 67 julgadores, com faixa etária de 18 a 46 anos, e 72% de julgadores do sexo feminino. O resultado do teste de aceitação, permitiu visualizar que apenas o atributo cor não apresentou diferença significativa entre os 3 tratamentos estudados ($p>0,05$) (Tabela 8). Pode-se verificar também que as notas hedônicas dadas pelos julgadores às amostras se assemelham, apresentando a maior parte das notas para os três sucos entre "gostei extremamente" e "gostei moderadamente" (Figura 11). Ao se realizar a análise instrumental de cor (Tabela 5, capítulo II), também não foi observada alteração significativa na cor sob as condições testadas. Mais uma vez, este fato pode ser explicado pela moderada estabilidade dos carotenoides.

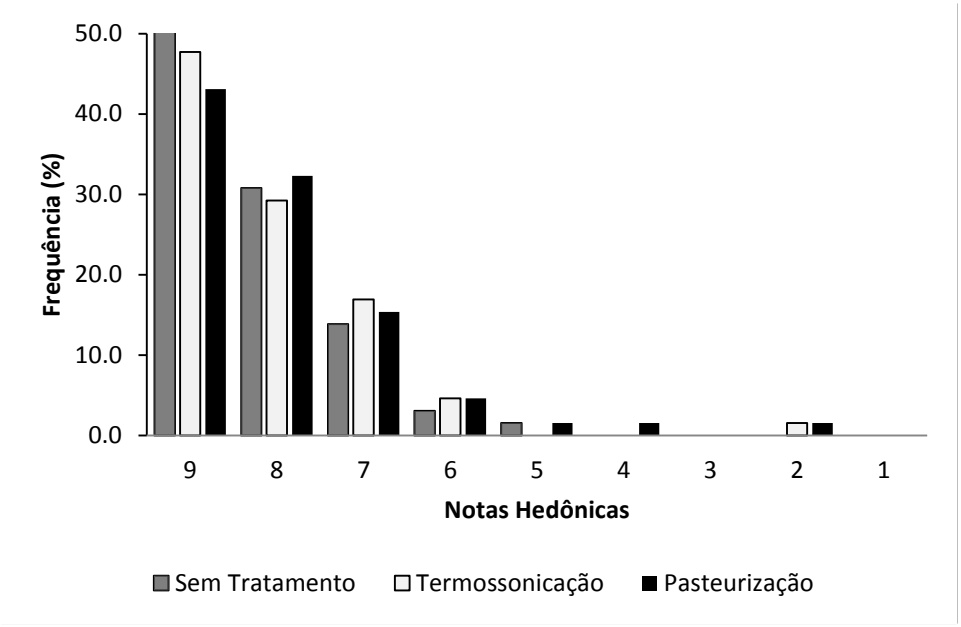


Figura 11– Distribuição de frequência para aceitação da cor de suco de laranja

Min et al. (2006), ao avaliar a aceitação da cor de amostras de suco de laranja pasteurizado sem tratamento e tratado com campos elétricos pulsados também não observaram diferença significativa na aceitação do atributo cor nas amostras avaliadas.

Tabela 8 – Médias das notas hedônicas obtidas pela aceitação sensorial dos sucos.

Atributo	**Amostra**		
	Sem Tratamento	Termossonicação	Pasteurização
Aroma	7,6[a]	7,1[a]	5,7[b]
Sabor	7,7[a]	6,5[b]	5,0[c]
Cor	8,1[a]	8,2[a]	7,9[a]
Aceitação Global	7,8[a]	7,2[b]	5,7[c]

As médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Walkling-Ribeiro et al., (2009) também não observaram diferença na aceitação da cor entre amostras de suco sem tratamento, com tratamento térmico e tratada com ultrassom e campos elétricos pulsados de forma conjugada ao submeter as amostras a análise sensorial.

Caminiti et al. (2012), por outro lado, ao avaliarem a aceitação sensorial de suco de laranja submetido a métodos não térmicos (ultravioleta, campos elétricos pulsado, alta pressão hidrostática) combinados com manotermossonicação perceberam diferença significativa entre as amostras tratadas por processos não térmicos em relação às amostras tratadas por pasteurização, sendo que as amostras submetidas a métodos não térmicos obtiveram aceitação superior.

Em relação ao atributo aroma, percebe-se que o suco tratado por ultrassom e o suco sem tratamento não apresentaram diferença significativa em termos de aceitação. O suco pasteurizado, por outro lado, apresentou uma aceitação inferior às outras amostras, com média hedônica entre “indiferente” e “gostei ligeiramente”. As demais amostras obtiveram média hedônica entre os escores “gostei moderadamente” e “gostei muito”.

Percebe-se ainda que a avaliação das amostras de suco sem tratamento e tratado por termossonicação apresentam notas hedônicas próximas (Figura 12), e todas acima de “desgostei ligeiramente”, enquanto o suco pasteurizado apresenta alta frequência nas notas hedônicas inferiores na escala.

Para os demais atributos, sabor e aceitação global, as três amostras diferiram entre si. O suco natural foi o mais aceito e o suco pasteurizado o de menor aceitação. Vale ressaltar que, apesar de ter uma aceitação ligeiramente inferior ao do suco sem tratamento, a amostra tratada por ultrassom obteve avaliação sensorial superior à do suco pasteurizado, mostrando-se uma alternativa comercialmente interessante de um produto com melhor aceitação no mercado.

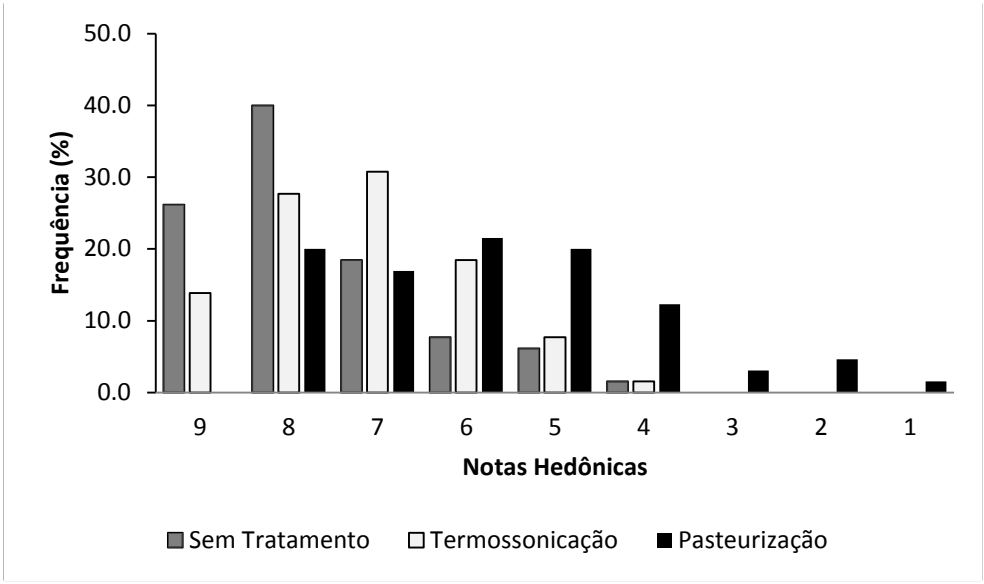
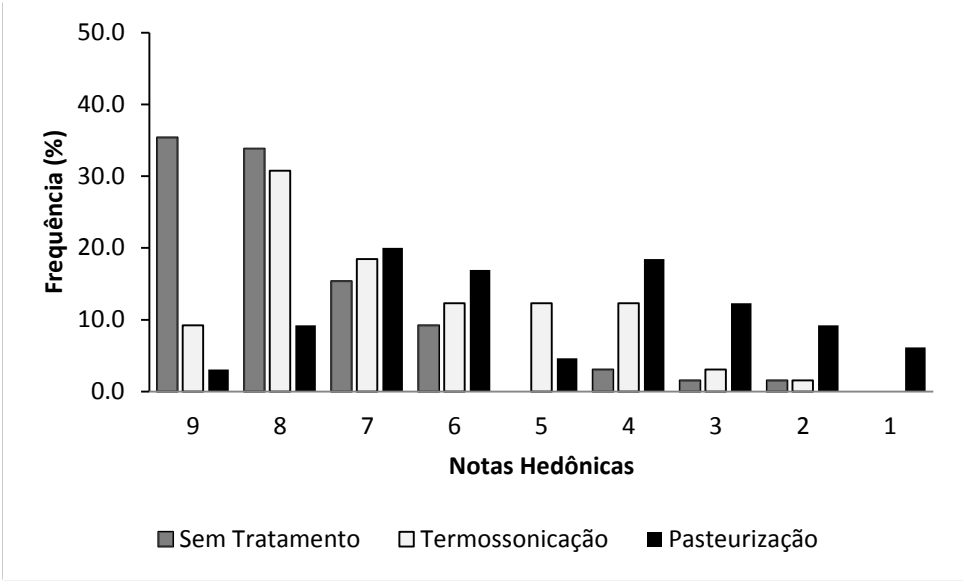


Figura 12 - Distribuição de frequência para aceitação do aroma de suco de laranja

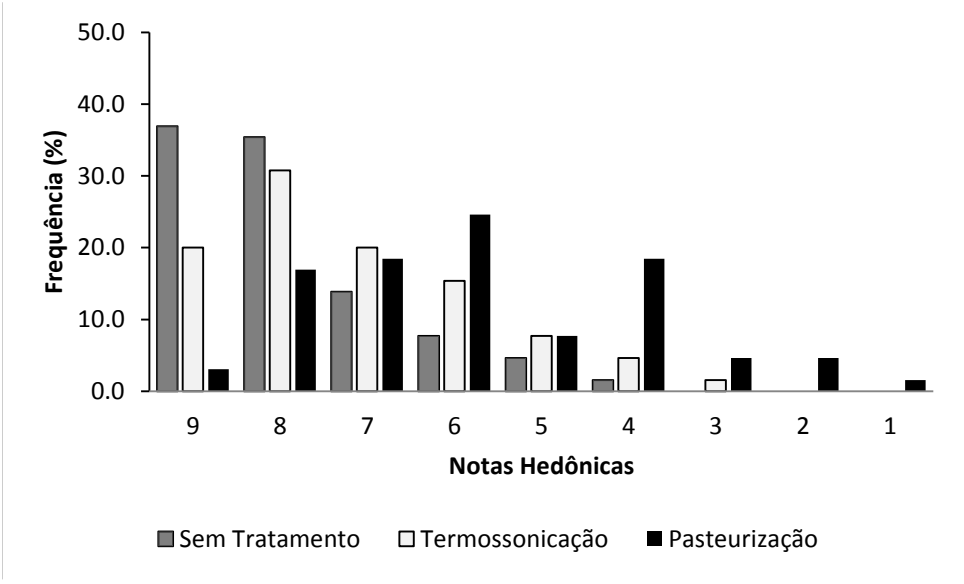
A aceitação global das amostras sem tratamento e submetida à termossonicação obtiveram média final entre os escores “gostei moderadamente” e “gostei muito”, sendo significativamente superior à média encontrada para o suco pasteurizado, que ficou entre os escores “indiferente” e “gostei ligeiramente”.

Do mesmo modo, nota-se (Figura 13), tanto para o atributo sabor quanto para o atributo impressão global, que ocorreu uma maior frequência de avaliações na nota hedônica “gostei extremamente” para o suco sem tratamento, o que pode explicar o fato de as amostras apresentaram diferença significativa apesar de ambos terem médias hedônicas próximas.

Por fim, percebe-se também uma maior concentração de notas hedônicas inferiores para a amostra de suco submetida à pasteurização em relação as duas demais, ressaltando mais uma vez que apesar de haver diferença sensorial entre o suco natural e o termossonicado, o mesmo apresenta aceitação sensorial muito superior à encontrada no suco submetido a pasteurização.



(a)



(b)

Figura 13 - Distribuição de frequência para aceitação dos atributos sabor (a) e impressão global (b) em suco de laranja

Min et al. (2006) também apresentaram resultados semelhantes aos obtidos neste experimento, ao avaliar o uso de campos elétricos pulsados para conservar suco de laranja. A amostra com melhores escores sensoriais foi a sem tratamento, seguida da amostra submetida ao método não térmico, e por fim a amostra que sofreu tratamento térmico atingiu os piores escores.

Verruma-Bernardi e Spoto (2003), em estudo sobre características sensoriais de suco tratado por irradiação, também concluíram que o método, mesmo a baixas temperaturas, causa efeito negativo para a aceitação sensorial dos atributos aparência, aroma, sabor e textura do suco de laranja.

Walkling-Ribeiro et al. (2009) não observaram diferença significativa para aceitação sensorial dos atributos, aceitação global, sabor e odor ao comparar suco tratado por sonicação e campos elétricos pulsados conjuntamente, com suco tratado por pasteurização. Porém, as análises realizadas pelos autores utilizaram suco reconstituído, ou seja, no processo de concentração já ocorrem alterações sensoriais no suco, que podem ter influenciado negativamente as respostas deste estudo.

Gómez-López et al. (2010) não observaram diferença significativa para a aceitação sensorial em relação aos atributos aroma e sabor, ao comparar o suco processado com ultrassom em comparação ao suco natural.

4. CONCLUSÃO

Diante do exposto, verifica-se que o tratamento utilizando a termossonicação é uma alternativa para conservação de suco de laranja, do ponto de vista da aceitação sensorial.

A cor do suco é uma característica de qualidade sensorial pouco afetada pelos tratamentos utilizados para conservar o suco. Os demais atributos foram bastante afetados em termos de aceitação, pelos tratamentos. Apesar da média dos atributos hedônicos encontrados serem ligeiramente inferiores para alguns parâmetros, em relação ao suco natural, a amostra tratada por ultrassom obteve resultados superiores aos do suco pasteurizado.

Os resultados indicam que o processo de termossonicação aplicado neste estudo pode ser uma ótima alternativa para obtenção de um produto com

características sensoriais mais agradáveis ao consumidor em relação àqueles produtos encontrados atualmente no mercado.

Por fim, verifica-se que há diferença sensorial entre o suco submetido ao tratamento com ultrassom e o suco 'in natura'. Porém está diferença não afeta significativamente a aceitação do suco tratado por termossonicação pelo consumidor.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMINITI, I. M.; NOCI, F.; MORGAN, D. J.; CRONIN, D. A.; LYNG, J. G. The effect of pulsed electric fields, ultraviolet light or high intensity light pulses in combination with manothermosonication on selected physico-chemical and sensory attributes of an orange and carrot juice blend. **Food and Bioproducts Processing** v. 90, p. 442–448, 2012.

CARDELLO, H. M. A. B.; CARDELLO, L. Teor de vitamin C atividade de ascrbato oxidase e perfil sensorial de manga (*Mangifera indica* L.) var. Haden, durante o amadurecimento. **Ciênc. Tecnol. Aliment.,** v. 18, n. 2, p. 211-217, 1998.

CINQUANTA, L.; ALBANESE, D.; CUCCURULLO, G.; DI MATTEO, M. Effect on Orange Juice of Batch Pasteurization in an Improved Pilot-Scale Microwave Oven. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 1, 2010.

CITRUSBR. **Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos.** Disponivel em: < http://www.citrusbr.com/> Acesso em: 01/02/2014

CHANDRAPALA, J.; OLIVER, C.; KENTISH, S.; ASHOKKUMAR, M. Ultrasonics in food processing - Food quality assurance and food safety. **Trends in Food Science & Technology** v. xx, p. 1-11, 2012a.

CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA, M.K.; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction, **Ultrasonics Sonochemistry,** v. 18, p. 813–835, 2011.

CROSBY, L. Juices pasteurized ultrasonically. **Food Production/ Management,** Sept., 16, 1982.

DEDE, S.; ALPAS, H.; BAYINDIRLI, A. High hidrostatic pressure treatment and storage of carrot and tomato juices: antioxidant activity and microbial safety. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.87, p.773-782, 2007.

DE LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, L. S. Avaliação da qualidade de suco de laranja industrializado. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 18, n. 1, p. 95-104, 2000.

DELLA LUCIA, S. M.; MINIM, V. P. R. Grupo de foco. In: MINIM, V. P. R. (Ed.). **Análise sensorial: estudos com consumidores**. 2ª ed. Viçosa: Editora UFV, cap. 4, p. 83-107, 2010.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M.; ORSOLANI, L.; MARTÍNEZ-YÉPEZ, A.; TAPIA, M. S. Microbiological and sensory quality of sonicated calcium-added orange juice. **LWT - Food Science and Technology** v. 43 p. 808–813, 2010.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). **Standard 4120: Sensory analysis – Methodology - Triangular test**. Second edition, 2004.

KNORR, D.; ZENKER, M.; HEINZ, V.; LEE, D.-U. Applications and potential of ultrasonics in food processing. **Trend Food Science Technology**, v. 15, p. 261-266, 2004.

LIMA FILHO, T.; TEIXEIRA, L. J. Q.; ROCHA, C. T.; FERREIRA, G. A. M.; SOUZA, M. C. Energia ionizante na conservação de alimentos: revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 243-254, 2012.

MIN, S.; JIN, Z. T.; MIN, S. K.; YEOM, H. ZHANG, Q. H. Commercial-scale pulsed electric field processing of orange juice. **Journal of Food Science** v. 68, n. 4, 2003.

MOSHONAS, M. G.; SHAW, P. E. A research note flavor and chemical comparison of pasteurized and fresh valencia orange juices. **Journal Food Quality**, v. 20. P. 31-40, 1997.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F. KALAKI, R. **O retrato da citricultura brasileira**. (2010). Disponivel em <www.citrusbr.com.br>. Acesso em: 01/02/2014.

NOGUEIRA., R. I. **Uso de ultrassom na conservação de alimentos**. (2010) Disponivel em: < http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/880574/1/2010

302.pdf> Acesso em: 20/12/13.

REIS, R. C.; MINIM, V. P. R. Testes de aceitação. In: MINIM, V. P. R. (Ed**.). Análise sensorial: estudos com consumidores**. 2ª ed. Viçosa: Editora UFV, cap. 3, p. 66-82, 2010.

ROESSLER, E. B. et al. Expanded statistical tables for estimating significance in paired-preference, paired difference, duo-trio and triangle tests. **Journal of Food Science**, v. 43, n. 3, p. 940-943, 1978.

SILVA, P. T.; FIALHO, E.; LOPES, M. L. M.; VALENTE-MESQUITA, V. L. Sucos de laranja industrializados e preparados sólidos para refrescos: estabilidade química e físico-química. **Ciênc. Tecnol. Aliment**., v. 25(3) p. 597-602. 2005.

SILVA, B. C. A. S. **Estudo das incertezas na medição de espessura por ultrassom em peças aeronáuticas**. Dissertação (Mestre em Engenharia Mecânica e Tecnologia de Materiais) Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca – RJ, 2012.

STONE, H. S.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. San Diego: Academic Press, 308p. 1993.

TRIBESS, T. B. Estudo da cinética de inativação térmica de pectnametilesterase em suco de laranja natural minimamente processado. Dissertação (Mestre em Engenharia). Universidade de São Paulo – SP. 2003.

VERRUMA-BERNARDI, M. R.; SPOTO, M. H. F. Efeito da radiação gama sobre o perfil sensorial de suco de laranja. **Ciênc. Tecnol. Aliment**., v. 23(1), p. 28-32, 2003.

WALKLING-RIBEIRO, M.; NOCI, F.; CRONIN, D. A.; LYNG, J. G.; MORGAN, D. J. Shelf life and sensory evaluation of orange juice after exposure to thermosonication and pulsed electric fields. **food and bioproducts processing** v. 87, p. 102–107, 2009.

WANG, J.; HU, X.; WANG, Z. Kinects models for the inactivation of Alicyclobacillus acidiphilus DSM14558^T and Alicyclobacillus acidoterrestris DSM 3922^T in apple juice

by ultrasound. **International Journal of Food Microbiology**, v. 139, p. 177-181, 2010.

ZHONG, M. T.; MING, X. W.; SU, P. W.; JU, Q. K. Effects of ultrasound and additives on the function and structure of trypsin. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, p. 399–404, 2004.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O suco de laranja submetido ao tratamento com US a 40 kHz e temperaturas de 50 ºC e 60 ºC levou a uma redução de 3 ciclos logarítmicos para bolores e leveduras e mesófilos totais, apresentando o mesmo resultado obtido quando o suco foi submetido a pasteurização convencional. Em relação a redução de bolores e leveduras e mesófilos, pode-se dizer que à termossonicação à temperaturas acima de 50 ºC é uma alternativa ao tratamento térmico.

A maior redução da enzima pectinametilesterase foi encontrada ao aplicar a termossonicação a 60 ºC, obtendo uma redução satisfatória na atividade dessa enzima. Logo, ao se avaliar o potencial da termossonicação para inativação enzimática, podemos citar que o uso da mesma, à temperatura de 60 ºC ou acima desta, surge como uma opção de processo a ser utilizado.

As características de cor, teor de sólidos solúveis e pH foram pouco afetados no suco de laranja. O teor de vitamina C residual do suco foi reduzido à medida que se aumentou a temperatura utilizada no processo.

A aceitação sensorial do suco submetido a ultrassom de 40 kHz e 60 ºC foi superior à encontrada para o suco pasteurizado. Em relação ao suco natural, para os atributos aceitação global e sabor, o suco termossonicado obteve médias ligeiramente inferiores. Logo, esta tecnologia é capaz de propiciar um produto com características sensoriais mais agradáveis ao consumidor.

Outros estudos são necessários para complementar este trabalho e elucidar melhor alguns aspectos da utilização do ultrassom como método de conservação.

Por fim, ressalta-se que a termossonicação apresenta grande potencial para utilização como um método de conservação alternativo à pasteurização, produzindo um produto seguro ao consumidor e sensorialmente mais agradável. A utilização da sonicação de maneira isolada não apresenta grande eficiência para conservar suco de laranja.