# **UFRRJ**

# INSTITUTO DE TECNOLOGIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

# DISSERTAÇÃO

DESENVOLVIMENTO DE NÉCTAR TROPICAL DE PITANGA (Eugenia Uniflora L.) A PARTIR DA POLPA PROCESSADA POR ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA: ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS E SENSORIAIS

ELLEN ALMEIDA DOS SANTOS FERREIRA



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

# DESENVOLVIMENTO DE NÉCTAR TROPICAL DE PITANGA (Eugenia Uniflora L.) A PARTIR DA POLPA PROCESSADA POR ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA: ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS E SENSORIAIS

## ELLEN ALMEIDA DOS SANTOS FERREIRA

Sob a Orientação de **Rosires Deliza** 

e Co-orientação de Amauri Rosenthal

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência,** no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de concentração em Ciência de Alimentos

664.80423 F383d

Ferreira, Ellen Almeida dos Santos, 1986-Desenvolvimento de néctar tropical de pitanga (Eugenia Uniflora L.) a partir da polpa processada por alta pressão hidrostática: aspectos microbiológicos e sensoriais / Ellen Almeida dos Santos Ferreira. - 2013.

79 f.: il.

Orientador: Rosires Deliza.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2013.

Bibliografia: f. 49-64.

1. Pitanga - Processamento - Teses. 2. Pitanga - Avaliação sensorial - Teses. 3. Pitanga - Microbiologia - Teses. 4. Pressão hidrostática - Teses. 5. Tecnologia de alimentos - Teses. I. Deliza, Rosires, 1958-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

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

## ELLEN ALMEIDA DOS SANTOS FERREIRA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de <u>Mestre em Ciência</u>, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de concentração em Ciência de Alimentos.

DISSERTAÇÃO	APROVADA EM 06/05/2013.
	Rosires Deliza. Ph.D. Embrapa Agroindústria de Alimentos (Orientador)
	Cristiane Hess de Azevedo Meleiro. D.Sc. UFRRJ (Membro)
	Lauro Luís Martins Medeiros de Melo. D.Sc. UFRJ (Membro)

Aos meus pais, Fernando e Léa, ao meu esposo amado Bruno, ao meu irmão, Marlon por todo amor, incentivo ao estudo e confiança no meu sucesso

#### **AGRADECIMENTOS**

Ao meu Deus, por estar sempre comigo me dando força para continuar!

É com muita alegria e carinho que recordo todas as pessoas que participaram deste trabalho e expresso aqui profundo agradecimento!!

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos e à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela minha formação acadêmica, por todos os amigos, as vivências e conquistas.

À Embrapa Agroindústria de Alimentos pela oportunidade e por ceder suas instalações para a realização deste trabalho.

Aos meus amados pais, Fernando Pereira e Dirléa Almeida, pelo exemplo de caráter, dedicação e força; por me incentivarem sempre a estudar e buscar meus sonhos; por me incentivar a seguir sempre! Com carinho especial à minha mãe que por muitas vezes foi minha maior incentivadora e ouviu todas as minhas queixas, dúvidas e medos. Dando-me estímulo para buscar forças que nem eu mesmo sabia que tinha. Obrigada Mamis!!!

Ao meu querido marido Bruno Siqueira, por ser tão especial em minha vida e estar presente em todos os momentos, me apoiando emocionalmente, me incentivando e me mostrando o lado positivo das dificuldades. Com seus "sábios" conselhos "no fim tudo dá certo"; "quando o prazo aperta a mente expande", pela paciência e companheirismo, por ter compreendido todos os momentos em que não pude estar presente, pela paciência com minha ausência nos dias de semana, finais de semana e feriados, dedicados ao experimento e estudo. Obrigada amor, por me apoiar incondicionalmente e ser o ombro para que eu pudesse "chorar as pitangas". Eu te amo!

Ao meu irmão Marlon Almeida pelas conversas dedicadas à resolução de problemas, ao incentivo constante, dicas e algumas vezes puxões de orelha. Que mesmo ocupado com sua dissertação, esteve sempre pronto a ajudar. A minha cunhada Liz Walterberg por todo apoio.

À minha orientadora Rosires Deliza pela ética e responsabilidade, pela oportunidade de aprendizado, crescimento, confiança, paciência e total disponibilidade. Agradeço muito e de coração a oportunidade e apoio mesmo quando eu me achava a pior de suas orientadas. Espero ter correspondido um pouco à expectativa e peço desculpas por todas as minhas falhas.

Ao professor Amauri Rosenthal pela co-orientação, apoio e ajuda na execução deste trabalho.

Às amigas de mestrado Marcela, Thaysa, Gabriela, Isabela e Luana pela companhia diária, ajuda nos momentos difíceis, risadas nos momentos alegres e principalmente pela amizade. Com carinho muito especial à Nathália pelas horas em que dividimos nossas alegrias, dificuldades e frustrações. Obrigada por resistirem a todos os meus choros!

Com muito carinho agradeço a minha amiga Dilcilene Sabaa Sur que foi a minha primeira incentivadora, sem o seu estímulo inicial esse sonho não teria começado. Obrigada amiga, por participar desta minha jornada me apoiando em todos os momentos. Essa vitória dedico a você!!

Agradeço também ao meu amigo e anjo da guarda Felipe Trompete, um ser iluminado que Deus me apresentou nessa caminhada como um grande amigo, sempre me ajudando, apoiando e confidenciando as dúvidas, tristezas, alegrias e risadas também! Obrigada amigo, você é meu ideal de profissional, muito sucesso!!

Queria agradecer todas as minhas companheiras de trabalho do Hospital Estadual Rocha Faria, sem a ajuda de vocês nas trocas de plantões nada daria certo. Obrigada queridas amigas Soliane Araújo, Regiane Almeida, Eliete Cristina e Vânia Teodoro pelo apoio e carinho que recebia a cada dia. E a minha chefe Maria Cristina de Brito pelo apoio.

A todos os meus amigos que torceram por mim, com especial carinho as amigas Ellen Pinheiro, Elisângela Albuquerque, minha tenente preferida Lilian Patrícia, Naira Chaves e Daniela Braz, por entenderem meus momentos de ausência, a causa foi nobre! Dedico esta conquista à vocês, que nestes dois anos não me abandonaram mesmo com toda minha falta de tempo. Estou na área!!

Ao laboratório de físico-química e microbiologia da Embrapa/ CTAA pela contribuição no desenvolvimento deste trabalho. Ao laboratório Pós-colheita da Embrapa/ CTAA, Planta IV, pela contribuição no desenvolvimento deste trabalho. Em especial à Alexandra, pela enorme paciência diante de toda minha falta de experiência no laboratório, pela atenção e ensinamentos.

Aos amigos Zé Carlos e Cláudia, técnicos do Laboratório de Análise Sensorial (LASI) da Embrapa, todo meu agradecimento pela ajuda diária nos trabalhos do laboratório e pela alegria da convivência. Com muito amor, agradeço à funcionária Claudia por todo apoio, todas as lições, pela amizade e companheirismo, jamais me esquecerei de você Claudinha!

Às estagiárias do LASI Thalita e Mayara pela ajuda imprescindível nos testes sensoriais e no processamento das amostras. Vocês foram meus múltiplos braços!! Obrigada pela alegria da convivência amigas, pelas risadas, pelo apoio e amizade que ganhei. Ao Felipe Reis por todo apoio nas formatações e descontração nos momentos mais críticos. E Rozana um anjo amigo que surgiu para sempre ajudar prontamente com toda sua sabedoria e experiência.

Com carinho agradeço a parceira "mamãe gemelar" Aline Marcellini, por todos os ensinamentos, dicas, pela paciência e incentivo. Mais uma amizade que ganhei junto com título de mestre!

A todos os consumidores que participaram dos testes sensoriais, com enorme carinho à equipe de provadores Filé (Sérgio), Anderson, Willian, Simone, Ronoel, Sidney. Com especial agradecimento, ao exemplar e mais querido funcionário Filé e ao divertido Anderson. Foi bom demais conviver com vocês.

Aos membros da banca, pela prontidão, gentileza, correções e sugestões.

De Marchi Indústria e Comércio de Frutas LTDA, pela disponibilização das polpas de pitanga contribuindo essencialmente para realização dos experimentos. A ação de incentivar a pesquisa deve sempre ser honrada. Parabéns pela iniciativa.

A disponibilidade para realização do teste sensorial pelo supermercado Hortifrut, muito bem representado pelas nutricionistas Juliana e Isabela. Obrigada pela enorme colaboração.

"Queira! Basta ser sincero e desejar profundo, você será capaz de sacudir o mundo, vai tente outra vez! Tente e não diga que a vitória está perdida, se é de batalhas que se vive à vida, tente outra vez!"

(Raul Seixas)

#### **RESUMO**

FERREIRA, Ellen Almeida dos Santos. **Desenvolvimento de néctar tropical de pitanga** (*Eugenia uniflora* **L.**) a partir da polpa processada por alta pressão hidrostática: aspectos microbiológicos e sensoriais. 2013. 66p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

O Brasil é um grande produtor e exportador de frutas e suco de frutas. A comercialização, em muitos casos, é limitada à sazonalidade da produção e à perecibilidade das frutas. A pitanga é uma fruta tropical originária das regiões Sul e Sudeste do Brasil, com alta perecibilidade e susceptibilidade a danos físicos durante o transporte. Tendo em vista todas as perdas que a cadeia produtiva da pitanga in natura pode sofrer, fica evidente a relevância da obtenção do suco deste fruto. Tradicionalmente o tratamento térmico tem sido empregado processamento e conservação destes produtos; no entanto, alterações indesejáveis nas características nutricionais e sensoriais podem acontecer. Entre as tecnologias inovadoras para redução dessas alterações indesejáveis, está a Alta Pressão Hidrostática (APH). Este método de conservação de alimentos oferece benefícios adicionais ao produto permitindo a obtenção com características mais próximas do produto in natura. Este estudo teve como objetivo investigar o processo de alta pressão na conservação de polpa de pitanga (Eugenia uniflora L.) de modo a avaliar a segurança microbiológica e a qualidade sensorial e nutricional do néctar obtido. O trabalho foi realizado na Embrapa Agroindústria de Alimentos (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). A polpa de pitanga foi processada por alta pressão hidrostática utilizando diferentes níveis de pressão e tempo de retenção, seguindo delineamento experimental do tipo composto central. Foram realizadas análises microbiológicas (para Salmonella spp., coliformes à 45°C, aeróbios mesófilos e fungos filamentosos e leveduras), físico-químicas (pH, acidez, sólidos solúveis, fibras), atividade antioxidante, cor instrumental e avaliação sensorial. Foi avaliada a vida útil microbiológica do néctar obtido a partir da polpa pressurizada e sensorialmente através da análise de sobrevivência (Survival Analysis). O néctar apresentou vida útil superior a 35 dias, necessitando estudos subsequentes. As características sensoriais dos néctares obtidos a partir da polpa pressurizada, da polpa não pressurizada (controle), do controle pasteurizado e de três marcas comerciais disponíveis no mercado foram avaliadas através da aceitação do consumidor e utilizando a metodologia check all that apply (CATA). Os dados foram analisados por Análise de Variância, teste de média, e Análise Múltipla de Fatores. O processamento da polpa por alta pressão foi eficaz na preservação do néctar refrigerado por até 35 dias. Não houve efeito negativo da APH na atividade antioxidante das amostras. Nas análises de cor todos os parâmetros analisados (L\*, a\* e b\*) diferiram (p<0,05) do controle (polpa não pressurizada) e as amostras pressurizadas. Os resultados obtidos na determinação de concentração de polpa e doçura "ideais" para a formulação do néctar de pitanga foram 36% e 10%, respectivamente. No Teste de Aceitação as amostras pressurizada e comercial B obtiveram as maiores médias e na metodologia check all that apply, os termos utilizados mais frequentemente como descritores foram cor avermelhada, sabor de pitanga, presença de partículas, cor atrativa, ácido, adstringente, sabor estranho, gosto doce, gosto amargo, aspecto arenoso. Tais termos podem ser, portanto, considerados os mais apropriados na descrição das amostras pelos consumidores.

Palavras chaves: alta pressão hidrostática, pitanga, análise sensorial, néctar.

#### **ABSTRACT**

FERREIRA, Ellen Almeida dos Santos. **Development of Brazilian cherry tropical nectar** (*Eugenia uniflora* L.) from the pulp processed by high hydrostatic pressure: microbiological and sensory aspects. 2013. 66p. Dissertation (MSc in Food Science and Technology). Institute of Technology, Department of Food Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

Brazil is a big producer and exporter of fruits and fruit juice. The sale, in many cases, is limited to the seasonality of production and perishability of fruits. The Brazilian cherry is a tropical fruit originally from the South and Southeast regions of Brazil, with high perishability and susceptibility to physical damage during transport. Considering all the losses that the productive chain of fresh Brazilian cherry may suffer, it is evident the importance of producing the juice of this fruit. Traditionally, thermal treatment has been employed in the processing and preservation of these products; however, undesirable changes in sensory and nutritional characteristics can happen. Among the innovative technologies to reduce these undesirable changes is High Hydrostatic Pressure (APH). This method of food preservation provides additional benefits to the product allowing products closer to the fresh product. This study aimed to investigate the process of high pressure in the preservation of Brazilian cherry pulp (Eugenia uniflora L.) to assess their microbiological safety and sensory quality and nutritional nectar obtained. The study was conducted at Embrapa Food Technology (Rio de Janeiro-RJ, Brazil). The Brazilian cherry pulp was processed by high hydrostatic pressure using different pressure levels, temperatures and retention time, following a central composite design. Microbiological analyzes were performed (for Salmonella spp., Coliforms at 45° C, mesophilic aerobic, yeasts and molds), physico-chemical (pH, acidity, soluble solids, fibers), antioxidant activity and instrumental color. It was investigated nectar microbiological shelf life obtained from the pressurized pulp. Shelf life estimation through Survival Analysis was also carried out, and the nectar exceeded 35 days of storage. Further studies are recommended. The sensory characteristics of nectars obtained from the pressurized pulp, nonpressurized pulp (Control), pasteurized Control, and three commercial brands available in the market were evaluated by consumer acceptance and through the methodology check all that apply (CATA). Data were analyzed using analysis of variance, Tukey test, and Multiple Factor Analysis. The high pressure process has been effective in preserving the nectar refrigerated for up to 35 days. There was no significant negative effect on antioxidant activity and color of the samples subjected to high pressure. The results obtained in the determination of "ideal" pulp concentration and sweetness for the nectar formulation cherry were 36% and 10%, respectively. In Acceptance Test samples pressurized and commercial B had the highest scores and the terms most frequently used in the methodology check all that apply were reddish, cherry flavor, presence of particles, attractive color, acid, astringent, off-flavor, sweet, bitter, gritty look. Such terms are therefore considered the most suitable to describe the samples by consumers.

**Key words:** high hydrostatic pressure, Brazilian cherry, sensory analysis, nectar.

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Pitangueira (Eugenia uniflora L.) folhas e flores.	5
<b>Figura 2</b> – Frutos de Pitanga em diferentes estádios de maturação (a) e confruto (b).	rte longitudinal do 6
Figura 3 – Pitangas (Eugenia uniflora L.) com diferentes colorações de polpa	a. 6
Figura 4 – Sistema de APH - geração de pressão por compressão direta.	16
Figura 5 – Mecanismo proposto para a oxidação da fluoresceína por AAPH.	22
Figura 6 – Fluxograma de obtenção da polpa de pitanga.	23
Figura 7 – Fluxograma de processamento da polpa de pitanga por APH.	25
<b>Figura 8</b> – (A) Embalagens sendo inseridas no suporte de amostra e (B) equ Pressão Hidrostática.	uipamento de Alta 25
Figura 9 – Esquema de preparação da microplaca para leitura.	28
Figura 10 – Determinação da doçura ideal para a formulação de néctar de pit	tanga. 40
Figura 11 – Determinação da diluição ideal para a formulação de néctar de p	oitanga. 41
Figura 12 — Distribuição de frequência das notas hedônicas dos consumamostras preferidas (Comercial B e APH) e menos prepasteurizada).	-
<b>Figura 13</b> – Descrição sensorial das amostras obtidas pelo CATA e por a fatores (AMF).	análise múltipla de 45

# LISTA DE TABELAS

<b>Tabela I</b> – Composição centesimai do fruto de pitanga e da polpa congelada.
<b>Tabela 2</b> – Valores dos padrões de identidade e qualidade fixados para polpa de pitanga. 9
<b>Tabela 3</b> – Valores dos Padrões de identidade e qualidade fixados para néctar tropical de pitanga.
<b>Tabela 4</b> – Planejamento experimental do estudo sobre polpa de pitanga pressurizada. 24
<b>Tabela 5</b> – Especificações de leitura do programa do equipamento Espectro Fluorímetro R Chisto – modelo infinite M200 da Tecan.
<b>Tabela 6</b> – Caracterização microbiológica da polpa de pitanga controle (não pressurizada). 31
<b>Tabela 7</b> – Contagem de coliformes à 45°C, aeróbios mesófilos e fungos filamentosos e leveduras nas amostras do planejamento experimental utilizado. 32
<b>Tabela 08</b> – Coliformes a 45° e fungos filamentosos e leveduras em polpa de pitanga controle (não pressurizada) e tratada por APH (300 MPa/5min/25°C), armazenada sobre temperatura de refrigeração (5±1°C).
<b>Tabela 9</b> – Caracterização físico-química da polpa de pitanga <i>in natura</i> . 35
Tabela 10 – Médias dos parâmetros de cor de polpa de pitanga controle e processadas por APH, seguindo o delineamento experimental utilizado.       37
Tabela 11 – Médias de atividade antioxidante (μmol Trolox/g) da polpa de pitanga controle e das amostras processadas por APH seguindo o delineamento experimental. 38
<b>Tabela 12</b> – Caracterização socioeconômica dos participantes do teste de doçura e diluição ideais.
<b>Tabela 13</b> – Médias de aceitação atribuídas às amostras de néctar de pitanga. 42
<b>Tabela 14</b> – Frequência em que cada um dos termos do questionário CATA foi marcado para a descrição do produto.

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo Geral	3
2.2 Objetivos Específicos	3
3 REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1 Pitanga (Eugenia uniflora L.)	4
3.1.1 Aspectos gerais	4
3.1.2 Aspectos físico-químicos e nutricionais	5
3.2 O Mercado de Frutas e de Sucos	7
3.3 Análise Sensorial	10
3.3.1 Teste de aceitação	11
3.3.2 Check all that apply	12
3.3.3 Análise de vida útil (Survival Analysis)	13
3.4 Processamento por Alta Pressão Hidrostática (APH)	15
3.4.1 Definição, vantagens e aplicações	15
3.4.2 Efeito da APH sobre os microrganismos	17
3.4.3 Efeito da APH sobre as enzimas	18
3.4.4 Efeito da APH sobre os constituintes nutricionais	19
3.5 Atividade Antioxidante	20
4 MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Material	23
4.1.1 Polpa de pitanga (Eugenia uniflora L.)	23
4.2 Métodos	23
4.2.1 Planejamento experimental	23
4.2.2 Processamento da polpa de pitanga por APH	24
4.2.3 Análises microbiológicas da polpa de pitanga	26
4.2.3.1 Coliformes à 45°C	26
4.2.3.2 <i>Salmonella sp/</i> 25g	26
4.2.3.3 Contagem de bolores e leveduras	26
4.2.3.4 Contagem Padrão em placas de aeróbios mesófilos	26
4.2.4 Determinações físico-químicas	26
4.2.4.1 pH	26
4.2.4.2 Sólidos solúveis (°Brix)	26
4.2.4.3 Acidez total titulável	26
4.2.4.4 Fibra alimentar	27
4.2.4.5 Determinação de cor instrumental	27
4.2.4.6 Atividade antioxidante	27
4.2.5 Avaliação sensorial	29
4.2.5.1 Determinação da diluição "ideal" e doçura "ideal" para a formulação de néctar	
pitanga	29
4.2.5.2 Teste de aceitação e <i>check all that apply</i> (CATA)	29
4.2.5.3 Avaliação da vida útil do néctar de pitanga	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 Análises Microbiológicas	31
5.2 Caracterização Físico-química	35

5.2.1 Parâmetros de cor	36
5.2.2 Efeito da APH sobre a atividade antioxidante	38
5.3 Análise Sensorial	39
5.3.1 Determinação da diluição ideal e doçura ideal	39
5.3.2 Teste de aceitação e <i>check all that apply</i> (CATA)	41
5.3.3 Análise de vida útil (Survival Analysis)	45
6 CONCLUSÕES	48
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
8 ANEXOS	65

# 1 INTRODUÇÃO

A alimentação equilibrada tem um papel importante na manutenção da saúde. Assim, há uma procura cada vez maior por alimentos que satisfaçam as necessidades nutricionais básicas ou que desempenhem efeitos fisiológicos benéficos à saúde do consumidor.

Diversos fatores estão desencadeando mudanças nos hábitos alimentares da população em todo o mundo, refletindo em aumento no consumo de frutas entre outras melhorias. Tais mudanças foram encorajadas por transformações como o maior cuidado com a saúde e maior consciência dos aspectos nutritivos dos alimentos, decorrente da maior divulgação pela mídia sobre os benefícios do consumo de frutas e a abertura a novos sabores e produtos. A ampliação do consumo de frutas *in natura* ou processadas na forma de sucos se deu especialmente em razão das características funcionais, atribuídas à presença de substâncias bioativas que, mesmo em pequenas quantidades, podem apresentar efeitos fisiológicos adicionais, por meio de sua ação antioxidante. Os sucos de frutas tropicais conquistam cada vez mais o mercado consumidor, sendo o Brasil, um dos principais produtores. Existe grande diversidade de produtos derivados de frutos e constante inserção de novos produtos no mercado, os quais, na maioria das vezes, ainda não foram devidamente pesquisados com respeito às propriedades bioativas à saúde.

A extensão territorial do Brasil aliada às variadas condições climáticas possibilita o desenvolvimento de grande variedade de frutos, matéria prima para o consumo *in natura* ou industrializada sob diversas formas. O Brasil é um grande produtor e exportador de frutas e suco de frutas. No entanto, a comercialização, em muitos casos, é limitada à sazonalidade da produção e à perecibilidade das frutas. A perecibilidade é uma das grandes causas do alto índice de perdas que, em algumas regiões do país, chega a 60%.

As frutas tropicais são altamente perecíveis, podendo deteriorar-se em poucos dias. Este fato, aliado às grandes distâncias, condições inadequadas de transporte, ausência ou falta de boas práticas agrícolas e uso de embalagens inadequadas dificultam a comercialização *in natura*. A pitanga (*Eugenia uniflora* L.) é uma fruta tropical originária das regiões Sul e Sudeste do Brasil que está bem adaptada ao clima da região Nordeste, sendo o Estado de Pernambuco o principal produtor nacional da fruta para processamento. No que concerne à produção e comercialização da fruta, não se dispõe de dados oficiais, tanto no Brasil quantos no mundo, no entanto estima-se que o Brasil seja o maior produtor mundial.

A fruta vem ganhando atenção em outros países pelo seu sabor exótico e conteúdo de pró vitamina A e a vitamina C, onde tem sido reconhecida como alimento natural e saudável. Portanto, existem grandes perspectivas de sua utilização nas misturas com sucos de outras frutas, como também pode ser utilizada como componentes de sabor em bebidas lácteas e, ainda, na forma de refresco em pó e néctares. A pitanga é rica em licopeno, um carotenóide que proporciona ação preventiva ao câncer de próstata e doenças cardiovasculares. Porém, a elevada vulnerabilidade à depreciação da pitanga faz com que o mercado da fruta *in natura* torne-se restrito aos centros próximos das regiões de plantio e o seu comércio seja realizado apenas durante o período de colheita. Os frutos completamente maduros são muito frágeis e qualquer choque ou atrito provocam ruptura da película, e a polpa entra rapidamente em fermentação. Além de serem altamente desejáveis para o consumo *in natura*, os frutos da pitangueira também são usados para a produção de suco, polpa congelada e sorvete.

Tendo em vista as perdas que a comercialização da pitanga *in natura* pode sofrer, fica evidente a relevância da obtenção do suco deste fruto. Tradicionalmente o tratamento térmico tem sido empregado no processamento e conservação destes produtos; no entanto, as polpas de frutas são alimentos sensíveis ao processamento térmico e alterações indesejáveis nas características nutricionais e sensoriais podem acontecer decorrente da utilização de altas temperaturas. Devido ao interesse dos consumidores, produtos com características próximas às do produto *in natura* ou fresco tem impulsionado o estudo de métodos alternativos de processamento e conservação de alimentos capazes de prover segurança microbiológica além de tornar mínimas as perdas da qualidade sensorial e nutricional. Entre estas tecnologias está o tratamento por Alta Pressão Hidrostática (APH), o qual é capaz de inativar microrganismos e enzimas responsáveis pela deterioração, submetendo-se o produto às pressões entre 100 a 1000 MPa. Um dos benefícios dessa tecnologia é a não utilização do calor preservando, dessa forma, atributos sensoriais e nutricionais, produzindo alimentos com elevada qualidade.

O emprego da tecnologia de processamento por alta pressão é promissora e vem sendo estudado visando a substituição ou complementação de processos convencionais com utilização de calor, de forma a evitar as reações responsáveis pela deterioração de alimentos. Desse modo, o processamento a alta pressão pode ocasionar a destruição ou redução drástica da carga microbiana inicial do alimento e inativar certas enzimas que são diretamente responsáveis pela deterioração, mantendo as características nutricionais e sensoriais dos produtos, pois deixa intactas moléculas pequenas, como a maioria das vitaminas e os compostos voláteis, que conferem sabor e aroma aos alimentos. Essa tecnologia possui ainda a vantagem de aumentar a vida útil.

A aceitação de um produto pelo consumidor é o principal objetivo da indústria de alimentos. A análise sensorial é uma ciência muito importante, pois pode ser empregada direta ou indiretamente no desenvolvimento de novos produtos, controle de qualidade, reformulação e redução de custos de produtos, relações entre condições de processo, ingredientes.

A escolha de alimentos é de natureza rica e complexa, estando relacionada aos aspectos biológicos e sócio-culturais que se refletem na maneira como grupos de indivíduos percebem as características nutricionais e sensoriais dos alimentos e os riscos e benefícios a eles associados. Estas dimensões do comportamento humano são aspectos que devem ser levados em consideração no estudo de produtos alimentícios, pois estes irão influenciar a demanda e as escolhas sobre qual produto ingerir (LAUGERETTE, 2007).

#### 2 OBJETIVOS

## 2.1 Objetivo Geral

Este trabalho teve como objetivo geral avaliar a aplicação da tecnologia de alta pressão na polpa de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) para a formulação do néctar com adequadas características microbiológicas e sensoriais.

## 2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a diluição "ideal" e doçura "ideal" para a formulação de néctar de pitanga.
- Determinar os parâmetros de tempo, temperatura e pressão ótimos para o processamento da polpa de pitanga por APH.
- Investigar o efeito da APH nos parâmetros de cor da polpa de pitanga processada.
- Investigar os efeitos da alta pressão hidrostática sobre as características sensoriais do néctar de pitanga, avaliando a aceitação do consumidor a partir de diferentes tipos de polpa (*in natura*, tratada por APH e marcas comerciais disponíveis no mercado) e definir os atributos sensoriais que direcionam esta preferência.
- Investigar o efeito da alta pressão hidrostática na atividade antioxidante da polpa de pitanga processada.
- Estimar a vida útil da polpa de pitanga processada por APH considerando as características microbiológicas e sensoriais.

## 3 REVISÃO DA LITERATURA

## 3.1 Pitanga (Eugenia uniflora L.)

#### 3.1.1 Aspectos gerais

A flora brasileira é composta de uma enorme diversidade de frutas que, pouco a pouco, vem sendo explorada economicamente. Grande parte dessas frutas oferece qualidade sensorial excepcional despertando o interesse do mercado pelo apelo exótico e nutricional (MATTIETTO *et al.*, 2003). A crescente demanda por novos compostos que tenham aplicação na indústria alimentícia, cosmética e médica tem levado à procura por princípios ativos inovadores, conduzindo-os a buscar, nas florestas, produtos e genes de interesse. Este fenômeno disseminou, nos últimos anos, o uso de plantas nativas, outrora marginalizadas na agricultura e na produção industrial. Dentre as principais redescobertas, encontra-se, com especial expressividade, o gênero *Eugenia* e, em particular, a espécie *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) (ALMEIDA, 2012).

A pitanga é nativa do Brasil até o norte da Argentina e Uruguai, pertence à família botânica das *Myrtaceae*, popularmente conhecida como pitanga comum, pitanga verdadeira, ubipitanga, ibipitanga, pitanga vermelha, pitangueira do jardim, pitangacuba, sendo também conhecida como "Surinam cherry" ou "Brazilian cherry". Nos últimos anos a região nordeste iniciou um cultivo mais tecnificado para exploração comercial desta fruta de alto potencial econômico. A pitangueira (Figura 1) frutifica de outubro a janeiro, sendo que a principal forma de comercialização é a polpa congelada (BEZERRA *et al.*, 2004).

Existe uma grande variação na coloração da fruta, indo do laranja, passando pelo vermelho e chegando ao roxo, ou quase preto (VIZZOTTO, 2008). A pitanga é encontrada em vários países uma vez que se adapta favoravelmente às diferentes condições climáticas, que pode prosperar em uma ampla variedade de habitats, podendo ser encontrada em diferentes tipos de vegetação e ecossistemas, incluindo as florestas, restingas e ambientes semiáridos. A dispersão zoocórica das sementes, aliada à capacidade de adaptação aos diversos ambientes, revela um grande potencial de disseminação da espécie (ALMEIDA, 2012).

Devido a esta adequabilidade às distintas condições de solo e clima, esta frutífera foi difundida e é atualmente encontrada nas mais variadas regiões do globo, existindo plantios comerciais na América Central, Flórida, Califórnia, China e sul da França. No Brasil, o maior plantio em escala comercial está instalado no Agreste Pernambucano. A região nordeste é a única a explorar comercialmente esta fruta de alto potencial econômico no Brasil. Estima-se que a produção anual de pitanga em escala comercial do Estado de Pernambuco esteja entre 1.300 e 1.700 ton./ano (SILVA, 2006).

A maioria dos pomares de pitanga existentes não utiliza cultivar definida e são, geralmente, provenientes de plantas propagadas por sementes, resultando em grande heterogeneidade (BEZERRA *et al.*, 2004).



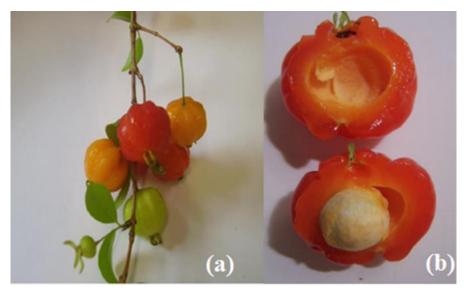
Figura 1 Pitangueira (Eugenia uniflora L.) folhas e flores. Fonte: Sikorski, 2009.

### 3.1.2 Aspectos físico-químicos e nutricionais

A composição química depende em grande medida do tipo de fruto e do grau de maturação; contudo, os componentes fundamentais quantitativamente das porções comestíveis são açúcares, polissacarídeos e ácidos orgânicos, enquanto os compostos nitrogenados e lipídicos são escassos (BELITZ; GROSH, 1988 *apud* BAGETTI,2009).

A pitanga é um fruto delicado e de elevada perecibilidade, suscetível às injúrias mecânicas, deterioração fisiológica, excessiva perda de água e vulnerável a doenças como a podridão, dificultando seu armazenamento e comercialização (MELO *et al.*, 2000; SANTOS *et al.*, 2003).

Os frutos da pitangueira são bagas globosas e elipsóides achatadas nas extremidades e com oito a dez sulcos longitudinais (Figura 2) de 1,5 a 5,0 cm de diâmetro, que possuem aroma característico intenso e gosto doce e ácido de coloração variada (ROMAGNOLO & SOUZA, 2006; GOMES, 2007; LIMA, 2002). Durante o processo de maturação a cor do fruto evolui de verde ao alaranjado atingindo a coloração vermelha intensa ou roxa (Figura 3) ao apresentar-se completamente maduro. Neste estádio os frutos são vulneráveis à deterioração devido à fragilidade, dificultando o transporte e comercialização (BEZERRA *et al.*, 2002; MÉLO, 2000). Estas alterações de coloração tornam essa fruta muito ornamental.



**Figura 2** Frutos de Pitanga em diferentes estádios de maturação (a) e corte longitudinal do fruto (b). Fonte: SIKORSKI, 2009 (a) e LEOPOLD, 2011 (b).



**Figura 3** Pitangas (*Eugenia uniflora* L.) com diferentes colorações de polpa. Fonte: LIMA, *et al* 2002

A pitanga é considerada fonte de diversos compostos benéficos à saúde. É rica em cálcio, fósforo, flavonóides, carotenóides e vitamina C, além de elevado poder antioxidante (SILVA, 2006). Jacques *et al.* (2007) quantificaram o teor de carotenóides nas pitangas roxa, vermelha e laranja (*Eugenia uniflora* L.), utilizando o método de determinação de carotenóides totais expresso em μg/g de β-caroteno. Dentre as três seleções de pitanga, a vermelha apresentou teor de carotenóides (152,96 μg/g de β-caroteno) muito superior à pitanga roxa (45,3 μg/g de β-caroteno) e laranja (30,35 μg/g de β-caroteno). O estudo relevou ainda teores elevados de antocianinas (superior ao da romã), carotenóides (superiores ao da cenoura) e compostos fenólicos (superior ao da amora-preta), podendo ser utilizada também pela indústria cosmética, devido ao alto poder antioxidante. Dentre os frutos existentes na natureza, a pitanga figura entre os que possuem os maiores teores de carotenóides totais (225,9 μg/g) (OLIVEIRA, 2006) reconhecidos pelas inúmeras funções de grande importância para o ser humano, especialmente na visão, na reprodução e no sistema imunológico (SILVA, 2006).

A composição química de polpas de frutas pode variar significativamente de uma amostra para outra, decorrente de fatores tais como região de plantio, condições climáticas, estágio de maturação e variedade das frutas. A composição centesimal da polpa de pitanga congelada e do fruto *in natura* estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 Composição centesimal do fruto de pitanga e da polpa congelada

Composição por 100g de parte comestível de pitanga in natura		Composição por 100g o de pitanga <i>congel</i>	
Umidade (%)	88,3	Umidade (%)	94,6
Energia (Kcal)	41	Energia (Kcal)	19
Proteínas (g)	0,9	Proteínas (g)	0,3
Lipídeos (g)	0,2	Lipídeos (g)	0,1
Carboidratos (g)	10,2	Carboidratos (g)	4,8
Fibra Alimentar (g)	3,2	Fibra Alimentar (g)	0,7
Cálcio (mg)	18	Cálcio (mg)	8
Ferro (mg)	0,4	Ferro (mg)	0,4
Fósforo (mg)	13	Fósforo (mg)	12
Potássio (mg)	113	Potássio (mg)	87
Vitamina C (mg)	24,9	Vitamina C (mg)	Tr
RE (µg)	154	RE (μg)	146
RAE (µg)	77	RAE (µg)	73

Fonte: TACO (2011)

Em pesquisa realizada por Hoffmann-Ribani (2008) em diferentes cultivares de nove frutas brasileiras, totalizando 20 amostras alimentícias normalmente consumidas no Brasil, as maiores concentrações de flavonóides foram constatadas em acerola, pitanga e maçã. A pitanga apresentou as maiores concentrações de miricetina. O licopeno é o carotenóide principal em pitanga, em proporções diferentes, dependendo da origem geográfica dos dos frutos, influenciado pelo clima da região de cultivo (RODRIGUEZ-AMAYA, 1992; AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2008). Além de carotenóides, os fatores ambientais podem influenciar outros componentes de frutos, tais como os compostos fenólicos (ROBARDS, 1997).

Os compostos fenólicos influenciam a qualidade dos frutos contribuindo tanto para propriedades sensoriais, como de promoção à saúde (SCALZO *et al.*, 2005). De acordo com Reynerstonetal (2008) que analisou vários antioxidantes e antiinflamatórios fenólicos, além de antocianinas de 14 subtipos de frutas tropicais *Myrtaceae*, as antocianinas foram os compostos mais abundantes e responsáveis pela cor brilhante desses frutos.

Estudos em fase inicial visam demonstrar que a presença de vitaminas, principalmente a vitamina A, podem também ser uma forte aliada no combate ao câncer. Busca-se avaliar se as antocianinas, os carotenóides e os fenóis podem reduzir o processo de disseminação de células cancerígenas no organismo humano (BOTELHO, 2007).

#### 3.2 O Mercado de Frutas e de Sucos

O consumo de frutas *in natura* vem aumentado em todo mundo. É crescente a preocupação da população com os aspectos nutricionais da alimentação. Esse interesse não se estende somente para as frutas frescas, mas também para os sucos processados (SOUSA, 2010).

A ampliação do consumo de frutas *in natura* ou processadas na forma de sucos deu-se especialmente em razão das características funcionais, atribuídas à presença de

substâncias bioativas que, mesmo em pequenas quantidades, podem apresentar efeitos fisiológicos adicionais, por meio de sua ação antioxidante (LIMA *et al.*, 2002; MELO *et al.*, 2008). Segundo Pereira (2006), a fim de atender a nichos de mercados diferenciados, o segmento das frutas processadas entrou na era da diversificação. A produção de sucos prontos para consumo no Brasil começou de maneira incipiente nos anos 1950, recebendo grande impulso e investimentos no início da década seguinte, quando fenômenos climáticos adversos geraram forte demanda por suco de laranja brasileiro nos Estados Unidos. A falta de produto no mercado possibilitou ao Brasil assumir papel de liderança na produção de sucos, de acordo com associação brasileira das indústrias de refrigerantes e de bebidas não alcoólicas (ABIR, 2005). O consumo de sucos de frutas no Brasil encontra-se em plena expansão em todas as regiões: o Brasil possui mais de 20 polos de fruticultura distribuídos nas regiões norte (amazônica), sul (frutas de clima temperado) e nordeste (culturas irrigadas no semi-árido) (PALLET *et al.* 2005).

Existem boas perspectivas de comercialização de frutas nativas, principalmente em nichos de mercado ávidos por novidades. Nos últimos anos, diversos estudos vêm demonstrando que tais frutas são ricas em compostos fitoquímicos, alguns deles já reconhecidos com propriedades funcionais. Além disso, a possibilidade de diversificar a dieta alimentar, incluindo novos produtos e sabores, é um dos grandes atrativos destas espécies (FRANZON, 2008).

O aumento do consumo dos sucos processados é também motivado pela falta de tempo da população em preparar suco das frutas *in natura*, pela praticidade dos produtos, substituição ao consumo de bebidas carbonatadas devido ao maior valor nutritivo e a preocupação com o consumo de alimentos mais saudáveis (MATSUURA, 2002).

Os sucos de frutas tropicais conquistam cada vez mais o mercado consumidor, sendo o Brasil, um dos principais produtores. Existe grande diversidade de produtos derivados de frutos e constante inserção de novos produtos no mercado de consumo, os quais, na maioria das vezes, ainda não foram devidamente pesquisados com respeito às propriedades e atividades benéficas à saúde (KUSKOSKI *et al.*, 2006). O agronegócio foi um dos setores que mais cresceram na economia brasileira. As exportações de produtos agropecuários tiveram um aumento de 99 %, segundo dados da Secretaria de Relações Internacionais do Agronegócio do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) nos últimos cinco anos (2002 a 2005) (BRASIL, 2007).

A extensão territorial do Brasil aliada às variadas condições climáticas possibilita o desenvolvimento de grande variedade de frutos, matéria prima para o consumo *in natura* ou industrializada sob diversas formas (CARRIZO, 2005).

A Food and Agriculture Organization (FAO) tem mostrado que a comercialização mundial de produtos derivados de frutas cresceu mais de cinco vezes nos últimos quinze anos. Entre os países em desenvolvimento, o Brasil destaca-se por ter a maior produção. A fruticultura foi um setor que expandiu as exportações. O Brasil com seu território caracterizado pelas nuances de clima e solos variados, apresenta grande produção agrícola diversificando-se em vários setores do mercado (BRUNINI, 2002). Ainda em 2007, de acordo com o portal de fruticultura Toda Fruta (2007) coordenado pela UNESP (Universidade Estadual de São Paulo – Jaboticabal), entre fevereiro de 2006 a janeiro de 2007, houve um grande avanço no setor de sucos. A exportação de agronegócio aumentou 14,4 % neste período, totalizando as vendas em US\$ 50,263 bilhões. A categoria suco de frutas pronto contribuiu significativamente para este avanço verificando-se aumento de 41,7% no período.

A polpa congelada, por ter mais praticidade, vem ganhando enorme popularidade, não só em uso doméstico, mas também em restaurantes, hotéis, lanchonetes, hospitais, etc., onde é utilizada, principalmente, na elaboração de sucos (SOUSA, 2010).

A polpa da pitanga apresenta excelentes condições para industrialização devido ao seu alto rendimento, aroma agradável e sabor exótico. Em razão da dificuldade da comercialização da fruta *in natura*, devido à alta perecibilidade e susceptibilidade a danos físicos durante o transporte, as agroindústrias regionais apresentam-se como solução por propiciar a sua comercialização na forma de polpa e sucos congelados ou no engarrafamento do suco integral (LIMA *et al.*, 2002).

Entende-se por polpa de fruta o produto não fermentado, não concentrado, não diluído, obtido de frutos polposos, através de processo tecnológico adequado, com um teor mínimo de sólidos totais, proveniente da parte comestível do fruto (BRASIL, 2000).

A polpa congelada de pitanga deve obedecer aos parâmetros da Instrução Normativa, n °1, de 7 de janeiro de 2000, que aprova o Regulamento Técnico Geral para Fixação da Identidade e Qualidade para polpa de fruta (BRASIL, 2000) (Tabela 2).

Tabela 2. Valores dos padrões de identidade e qualidade fixados para polpa de pitanga

Composição	Mínimo	Máximo
Sólidos solúveis em º Brix, a 20º C	6,00	-
pH	2,5	3,4
Acidez total expressa em ácido cítrico (g/100g)	0,92	-
Açúcares totais naturais da pitanga (g/100g)	-	9,50
Sólidos totais (g/100g)	7,00	-

Fonte: Brasil (2000)

O néctar Tropical de Pitanga definido como bebida não fermentada, obtida pela dissolução, em água potável, da polpa da pitanga (*Eugenia* spp.), por meio de processo tecnológico adequado, deve obedecer aos parâmetros físico-químicos (Tabela 3) exigidos pela Instrução Normativa n°12 de 04 de Setembro de 2003 para o suco tropical, onde a cor deve variar de alaranjada a vermelha; sabor e aroma próprios (BRASIL, 2003).

**Tabela 3.** Valores dos Padrões de identidade e qualidade fixados para néctar tropical de pitanga

Composição	Mín	Máx
Polpa de pitanga (g/100 g)	25,00	,
Sólidos solúveis em º Brix, a 20º C	10,00	,
Acidez total expressa em ácido cítrico (g/100g)	0,20	,
Açúcares totais naturais da pitanga (g/100g)	6,00	,

Fonte: Brasil (2003)

A comercialização de frutas e subprodutos como polpa e suco ou néctar deve alcançar os padrões microbiológicos de acordo com a legislação vigente. Os órgãos federais que regulamentam estes padrões no Brasil são o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), vinculada ao Ministério da Saúde. A Instrução Normativa número 01, do MAPA (BRASIL, 2000), de 7 de janeiro de 2000, a qual determina o Regulamento

Técnico Geral para a Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta, estabelece os seguintes limites máximos: soma de fungos filamentosos e leveduras — máximo de 5 x 10<sup>3</sup>/g para polpa *in natura*, congelada ou não, e 2 x 10<sup>3</sup> para polpa conservada quimicamente e/ou que sofreu tratamento térmico; coliforme Fecal (45° C) - máximo de 1/g e *Salmonella spp.* — ausente em 25g.

A Resolução RDC número 12, de 02 de janeiro de 2001 a qual Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001), determina para polpas de frutas concentradas ou não, com ou sem tratamento térmico, refrigeradas ou congeladas, os seguintes padrões: coliformes a  $45^{\circ}$  C/g –  $10^{2}$  e Salmonella spp/25g – ausência.

#### 3.3 Análise Sensorial

A Análise Sensorial é uma ciência que usa os órgãos dos sentidos humanos para mostrar, quantificar, analisar e interpretar as reações produzidas pelas características dos alimentos e materiais, como são percebidas pelos órgãos da visão, olfato, gustação, tato e audição (IFT, 1981).

Em geral, essas técnicas são utilizadas com grandes grupos de consumidores para avaliação da preferência ou aceitação e com pequenos grupos para detectar aspectos sensoriais mais específicos (TREPTOW, 1993).

A cadeia de percepção sensorial envolve três etapas básicas, o estímulo alcança o órgão sensor e é convertido em sinal nervoso transportado até o cérebro, que organiza e interpreta a sensação recebida em percepção. Por último uma resposta é elaborada com base na percepção. Tanto a sensação quanto a percepção envolvem o cérebro, sendo a sensação um fenômeno mais periférico e a percepção mais central, esta última influenciada por um pré-condicionamento do indivíduo (MEILGAARD *et al.*, 2007).

A análise sensorial é um campo muito importante na indústria de alimentos, pois contribui direta ou indiretamente para inúmeras atividades, como desenvolvimento de novos produtos, controle de qualidade, reformulação e redução de custos de produtos, relações entre condições de processo, ingredientes (PAL, 1985). Segundo Treptow (1993) também é útil para identificar a variedade adequada da matéria-prima, bem como o melhor tipo de processamento e de armazenamento, correlacionar análises físico-químicas e determinar a reação do consumidor.

A avaliação sensorial de alimentos é função primária do homem, que desde a infância, os aceita ou rejeita de acordo com a sensação que experimenta ao observá-los ou ingeri-los. Então, se é desejado avaliar a qualidade sensorial de um alimento e dizer às sensações que o homem terá ao ingeri-lo, nada mais óbvio do que perguntar a ele mesmo.

De acordo com Murray, Delahunty & Baxter (2001) os produtos possuem distintos aspectos sensoriais qualitativos os quais compreendem a aparência, o aroma, sabor, textura ou consistência, sabor residual (*aftertaste*) e propriedades sonoras.

Os métodos utilizados em análise sensorial podem ser divididos em descritivos, discriminativos e afetivos. A qualidade sensorial pode ser avaliada por meio de métodos descritivos. Estes métodos têm como objetivo descrever as propriedades sensoriais do alimento, fornecendo informações sobre a aparência, aroma, sabor e textura. O conhecimento das propriedades sensoriais pode ser um diferencial durante o desenvolvimento e a melhoria de produtos e possibilita trabalhar o método de processamento, os ingredientes e as proporções a serem utilizados na fabricação do produto a fim de se obter um alimento com perfil sensorial que proporcione melhor

aceitação no mercado consumidor (AVEDANO, 2007). Ao se avaliar a aparência, na verdade, investiga-se um amplo conjunto de características distintas, como: a cor (fator de grande relevância); dimensões do produto, formas; etc. Já em relação ao aroma, o que é avaliado é o conjunto de compostos aromáticos voláteis que são naturalmente liberados pelo produto. Os processos de deterioração, tanto os enzimáticos como os provocados por microrganismos, acabam por liberar compostos aromáticos característicos que são facilmente detectáveis pelo olfato (DANTAS, 2004).

Os métodos discriminativos têm como objetivo investigar se existe diferença sensorial entre as amostras. Na prática, os cinco testes discriminativos mais utilizados são: o teste triangular, duo-trio, comparação pareada, comparação múltipla e ordenação. Estas metodologias permitem a avaliação de diferenças provenientes de alterações químicas ou físicas, de variações de matéria- prima, do material usado para embalagem e das condições de armazenamento (AVEDANO, 2007).

No método afetivo o avaliador expressa a reação afetiva ao escolher um produto pelo outro. É a forma usual de se medir a opinião de um grande número de consumidores com respeito à preferência, atitudes e opiniões e o teste de aceitação é um dos mais utilizados, descrito a seguir.

#### 3.3.1 Teste de aceitação

A aceitação ou rejeição de um alimento depende de suas propriedades sensoriais. A determinação da aceitação pelo consumidor é parte crucial no processo de desenvolvimento ou melhoramento de produtos, sendo bastante utilizada nas indústrias de alimentos (CARNEIRO; MINIM, 2006).

Os testes de aceitação ou afetivos requerem equipe com grande número de participantes que representem os consumidores atuais ou potenciais do produto e têm como objetivo medir atitudes subjetivas como aceitação ou preferência, de forma individual ou em relação a outros produtos.

Devido à confiabilidade de seus resultados e à facilidade de utilização pelos provadores, a escala mais usada nos métodos afetivos é a escala hedônica de nove pontos, desenvolvida por Peryam e Pilgrim em 1957. É uma escala de categorias em que a dimensão gosto/desgosto é dividida em nove categorias, indo de "desgostei extremamente" a "gostei extremamente", com uma categoria neutra, "nem gosto nem desgosto". As respostas são diretas e de magnitude hedônica, isto é, relacionadas ao "gostar", uma vez que o indivíduo baseia sua escolha nas suas próprias sensações em relação ao produto (JAEGER; CARDELLO, 2009).

Preferência pode ser medida diretamente pela comparação de um produto com outro ou de um produto em relação a vários outros, isto é, qual de dois ou mais produtos é o preferido; ou indiretamente, determinando-se qual produto recebeu avaliações significativamente mais elevadas que outro em uma avaliação envolvendo vários produtos.

Testes que utilizam tais métodos podem ser denominados de teste de preferência, ou teste de aceitação e são geralmente utilizados após a realização de testes sensoriais descritivos ou discriminativos (STONE & SIDEL, 2004). Para a adequada utilização, os participantes devem ser consumidores habituais ou potenciais do produto em que se pretende avaliar. Segundo Guerrero (1999), no estudo de consumidores devem ser considerados os seguintes aspectos: a representatividade, as características dos testes (como: complexidade, número de questões, formulação da pergunta e confiabilidade do teste) e a apresentação das amostras (número de amostra a avaliar e codificação).

É importante ressaltar que a qualidade sensorial é uma resposta individual, que varia de indivíduo para individuo, em função das experiências, da expectativa, do grupo

étnico e de preferências individuais. Dessa forma, ao avaliar a aceitação de um alimento, o analista sensorial deve realizá-lo junto à população de indivíduos a quem o produto de fato de destina, para que ele possa obter resultados confiáveis (LAUGERETTE, 2007).

Os dados de testes afetivos vêm, tradicionalmente, sendo avaliados por análise de variância univariada (ANOVA) e testes de comparação de médias, comparando-se a aceitação média entre produtos (DANTAS, 2004). Entretanto, ferramentas que consideram a preferência individual de cada participante como o Mapa da Preferência (MacFie, 2007) têm sido utilizado e vem demonstrando obter resultados mais adequados. O Mapa da Preferência é um instrumento que fornece subsídios para o posicionamento estratégico de empresas e de seus produtos no mercado. Quando associado aos testes descritivos tais como a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) e o Perfil Livre, permitem conhecer e adequar as propriedades sensoriais dos produtos em direção à expectativa dos consumidores pertencentes a um mercado alvo previamente estabelecido (MacFIE, 2007).

Os dados hedônicos de um grupo de amostras (seis ou mais) avaliadas pelos consumidores (teste da preferência, por exemplo) podem ser analisados estatisticamente de duas maneiras: (1) pelo Mapa da Preferência Interno (MPI), onde as respostas dos consumidores indicam as amostras preferidas e (2) Mapa da Preferência Externo (MPE), na qual os dados dos consumidores são correlacionados com os resultados de testes de provadores treinados (perfil sensorial determinado através da análise descritiva) revelando as características sensoriais das amostras preferidas pelos diferentes segmentos de consumidores e identificando aqueles atributos que direcionaram a preferência (GREENHOFF & MacFIE, 1994).

Sikorski (2009) avaliando o potencial tecnológico da pitanga propôs a elaboração de chá verde sabor pitanga, o qual foi avaliado em teste de aceitação com 60 consumidores. Os resultados mostraram que 78 % dos participantes gostaram muito ou muitíssimo do produto, avaliando o mesmo com notas acima de 8 em escala hedônica estruturada, onde 9 correspondia a gostei muitíssimo. Tal resultado demostrou a boa aceitabilidade do produto.

A aceitabilidade da polpa de pitanga congelada armazenada por 90 dias foi avaliada em relação à aparência, aroma e sabor utilizando escala hedônica não estruturada e intenção de compra (5=certamente compraria, 3=tenho dúvidas se compraria ou não, 1=certamente não compraria), por 40 consumidores de sucos e néctares de frutas tropicais. A polpa de pitanga foi avaliada na forma de um néctar com 20° Brix (50% de polpa de pitanga, 50% de água filtrada). O atributo aparência variou significativamente (p<0,05) aos 90 dias de estocagem, devido à ocorrência de separação parcial de fases e alteração de cor, ocasionando uma forte queda na aceitabilidade sensorial e na intenção de compra do néctar formulado com a polpa de pitanga armazenada por 90 dias a -18°C (LOPES, 2005).

#### 3.3.2 *Check all that apply*

Informação sobre as características sensoriais de um produto tem sido tradicionalmente obtida utilizando a análise sensorial descritiva, cujo tempo de execução e custo são elevados. A metodologia *Check All That Apply* (CATA) surgiu devido ao interesse no desenvolvimento de métodos confiáveis e rápidos, visto que é difícil para a indústria aplicar de forma rotineira a análise sensorial descritiva no processo de desenvolvimento de produtos. A metodologia tem sido utilizada em estudos de consumidores para determinar quais os atributos sensoriais podem ser característicos de um produto (LANCASTER & FOLEY, 2007). O CATA é uma das metodologias

mais novas utilizadas para coletar informações sobre a percepção dos consumidores sobre as características sensoriais dos produtos avaliados. O formato da questão CATA permite aos consumidores escolher todos os atributos possíveis a partir de uma lista apresentada para descrever o produto. Como as respostas CATA estão diretamente ligadas à percepção dos consumidores das características do produto, essas respostas podem ser utilizadas como dados suplementares para maximizar a aceitação dos produtos pelos consumidores. Requer instrução mínima, facilidade de uso e é concluído rapidamente (LANCASTE & FOLEY, 2007).

De acordo com Dooley, Lee e Meullenet (2010), os termos podem ser gerados por um painel de avaliadores treinados, ou por um grupo de consumidores ao testar o produto (por exemplo, em um grupo focal). Difere-se do teste de escalas, pois não são dadas intensidades aos atributos. Além disso, os descritores não são limitados aos atributos sensoriais do produto, mas também pode estar relacionados ao uso do produto ou conceito que se encaixam. Este tipo de metodologia tem a vantagem de reunir informações sobre os atributos do produto percebidas sem a necessidade de escala, permitindo uma descrição um pouco menos artificial das principais propriedades sensoriais.

A metodologia consiste em uma análise mais versátil, que está sendo cada vez mais aplicada para uma variedade de diferentes fins na ciência sensorial de consumidores. Resumidamente, os entrevistados são apresentados com um objeto para ser avaliado (alimento ou bebida) e uma lista de termos descritores de escolha múltipla, pelos quais é possível caracterizá-lo está, a sua disposição. Sua tarefa é simplesmente selecionar todos os termos que eles consideram apropriados para cada amostra analisada. A relevância de cada opção de descritores na discrição do produto é determinada calculando a sua frequência de utilização pelos entrevistados (ARES, 2013).

A metodologia surgiu da dificuldade dos consumidores em expressar vocabulários pertinentes ao um determinado atributo, principalmente aqueles relacionados à textura. Segundo Szczesniak (1979), a textura é um atributo sensorial muito complexo que infere um grande impacto na aceitação de certos produtos por parte dos consumidores. Contudo, uma melhor compreensão da visão do consumidor sobre o atributo textura é fundamental para eliminar diferenças entre as descrições dos produtos realizadas pelos consumidores e pelos provadores treinados.

Ares et al. (2010) utilizaram as questões CATA no desenvolvimento de sobremesas lácteas de chocolate formuladas com diferentes concentrações de açúcar e cacau e observaram diferenças significativas nas frequências de utilização dos termos pelos 70 consumidores que participaram do teste, sugerindo que esta metodologia foi capaz de detectar diferenças na percepção dos consumidores em relação às amostras. Além disso, as avaliações dos consumidores e dos provadores treinados foram semelhantes.

Dooley, Lee & Meullenet (2010) realizaram um estudo para avaliar o uso e a eficiência do questionário CATA para a criação de mapas de preferência e comparar com mapas de preferência gerados a partir da metodologia descritiva. Foram avaliadas 10 amostras comerciais de sorvetes de baunilha por 80 consumidores e 17 provadores treinados. Os autores constataram que a caracterização dos produtos foi semelhante para ambos os métodos sensoriais, sugerindo que a metodologia CATA apesar de simples, quando comparada com o uso da escala de intensidade, pode chegar a respostas semelhantes com mais espontaneidade.

## 3.3.3 Análise de vida útil (Survival Analysis)

Cada vez mais os consumidores estão exigentes quanto à qualidade dos alimentos, e têm a expectativa de que tal qualidade será também mantida em nível elevado durante o período entre a compra e o consumo. Essas expectativas são uma consequência não apenas da exigência de que o alimento deve permanecer seguro, mas também da necessidade de minimizar as alterações indesejadas em suas qualidades sensoriais.

O Brasil é um país de dimensões muito amplas, muitas vezes os pontos de produção dos alimentos situam-se muito distantes dos pontos de consumo, exigindo um cuidado muito especial na conservação destes alimentos, tanto ao natural como na forma processada. O processo de urbanização crescente tem exigido criatividade à indústria na produção de alimentos processados de boa qualidade, seguros, de bom valor nutritivo e de fácil preparação para consumo. Esta tarefa exige continuadas pesquisas para um perfeito domínio dos mecanismos de deterioração dos alimentos, possibilitando com isso um maior controle destas reações e um prolongamento da vida útil dos alimentos (FREITAS, 2006).

Avaliação sensorial é o fator chave para a determinação do prazo de validade de muitos produtos alimentares. Muitos alimentos microbiologicamente estáveis, ou seja, com poucos fatores favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos, tais como alimentos com baixa atividade água, terão a vida útil definidos basicamente pelas alterações nas suas propriedades sensorais. Do ponto de vista sensorial, os produtos alimentares não têm vida de prateleira própria, mas sim, estes dependem da interação do alimento com o consumidor (HOUGH *et al.*, 2003).

De maneira geral, a vida útil pode ser definida como o período decorrido entre a produção e o consumo de um produto, no qual a aceitabilidade pelo consumidor é mantida, verificando-se a manutenção de um nível satisfatório de qualidade, avaliada por características sensoriais, tais como aparência, aroma, sabor e textura, carga microbiana e pelo valor nutricional (FREITAS, 2006).

A qualidade de produtos alimentícios se altera com o tempo de estocagem pela ocorrência de uma série de transformações bioquímicas e microbiológicas (ALVES, 1996). Numerosas mudanças podem ocorrer nos alimentos durante o processamento e a estocagem, quando estes são expostos a diferentes condições ambientais, as quais podem desencadear uma série de reações podendo levar à degradação e consequente rejeição pelos consumidores (SINGH, 1994 apud MARCHI, 2003).

Parâmetros fisiológicos, valores nutricionais e atributos sensoriais como cor, sabor e textura ou consistência definem a qualidade dos alimentos. A alteração de uma ou mais dessas propriedades significa a diminuição da qualidade e a redução de vida-deprateleira (PFEIFFER *et al.*, 1999).

A preservação das características originais dos alimentos por maior tempo possível é um dos grandes desafios da indústria de alimentos. Portanto, as condições do ambiente de armazenamento, tais como temperatura, umidade, luminosidade, bem como o tipo e o material da embalagem utilizados são aspectos que devem ser avaliados e controlados, visando a manutenção da qualidade dos produtos durante a vida útil (MATTA, 2004).

Alterações de qualidade de bebidas à base de frutas envolvem mudanças físico-químicas, microbiológicas, enzimáticos e sensoriais, geralmente relacionadas ao tratamento térmico, composição química e qualidade inicial da bebida, oxigênio dissolvido e presente no espaço livre, temperatura de estocagem, embalagem e superfície de contato, entre outros fatores. As alterações sensoriais afetam o aroma, sabor, cor, consistência, estabilidade da turbidez, separação de fases sólido/líquido; e

nutricionais (vitaminas); as alterações físico-químicas relacionam-se às reações oxidativas e as microbiológicas ao crescimento de bolores e leveduras (MARCHI, 2003). Em conjunto, esses fatores e as alterações durante a distribuição e estocagem irão influenciar a vida útil do produto. Microorganismos como bactérias láticas, leveduras e fungos tolerantes ao meio ácido, predominam nas deteriorações de caráter microbiológico dos sucos (CORRÊA NETO, 1999).

Entre as alterações está o escurecimento enzimático caracterizado pelas reações oxidativas de compostos fenólicos a ortoquinonas catalisadas pela enzima polifenoloxidase presente em frutas. Os produtos dessas reações polimerizam-se e/ou interagem com proteínas ou aminoácidos para produzir compostos escuros, como as melanoidinas. Ainda, podem ser citadas as reações responsáveis pelo aparecimento de odores e sabores estranhos no produto final, que são catalisadas por enzimas oxidativas como a peroxidase e a catalase (PFEIFFER et al., 1999).

A vida útil de um alimento é o tempo em que ele pode ser conservado em determinadas condições sofrendo pequenas alterações consideradas aceitáveis pelo fabricante, pelo consumidor e pela legislação vigente. Assim, é necessário também o uso da análise sensorial para avaliar a vida-de-prateleira dos alimentos (HOUGH et al, 2003). Shelf life pode ser vista na própria definição do IFT (Institute of Food Technologists, 1974) que define o prazo de validade como o "período entre a fabricação e compra no varejo de um produto alimentício, durante o qual o produto é de qualidade satisfatória".

# 3.4 Processamento por Alta Pressão Hidrostática (APH)

A busca por tecnologias não convencionais de processamento de alimentos vem norteando muitas pesquisas. O surgimento de demandas dos consumidores por produtos de melhor qualidade nutricional e sensorial, com características mais próximas ao produto *in natura* ou fresco, tem levado à busca por novas tecnologias. Processos capazes de preservar o produto contra os agentes deteriorantes, sem acarretar os efeitos adversos dos processamentos convencionais, notadamente dos processos envolvendo tratamento térmico são de grande interesse de estudos na área da indústria alimentícia (DONSÍ *et al.*, 1996; BUTZ & TAUSCHER, 2002; DELIZA *et al.*, 2005; SAN MARTÍN, BARBOSA-CÁNOVAS & SWANSON, 2002). Nesse sentido, o processamento por APH pode ser uma alternativa para atender a tal demanda.

A APH destaca-se pela aplicabilidade no processamento de derivados de frutas. O efeito da combinação da alta pressão com o baixo pH de alguns destes produtos permite a eliminação de bolores e leveduras e formas vegetativas de bactérias a pressões relativamente baixas (300 a 500 MPa), proporcionando mínima degradação de vitaminas e compostos responsáveis pelo sabor e aroma dos produtos (CANO, De ANCOS & SÁNCHEZ-MORENO, 2005; CHEFTEL, 1995; JAY, 2005).

### 3.4.1 Definição, vantagens e aplicações

O processamento por alta pressão é um método de conservação de alimentos que quando confrontado a processos tradicionais de pasteurização oferece alguns benefícios adicionais ao produto, Por não alterar pequenas moléculas como pigmentos, vitaminas e os compostos voláteis. A cor, o aroma e os nutrientes da maioria dos alimentos não são afetados permitindo obtenção de produtos com características mais próximas do produto in natura. Exerce também efeito antimicrobiano e sobre deteriorações enzimáticas

indesejáveis resultando em segurança e aumento de vida útil do produto (JAY, 2005; TAUCHER, BUTZ & GARCIA, 2000; SMELT, 1998).

Este processo baseia-se na aplicação dos princípios de *Le Chatelier* e no princípio da transmissão isostática da pressão (CHEFTEL, 1995). Para compreender os efeitos da APH sobre os alimentos é necessário conhecer estes dois princípios básicos. Pelo princípio isostático a pressão é transmitida de maneira uniforme e instantânea por todo o alimento, independente da sua forma, tamanho ou volume. Difere do tratamento térmico em que a penetração de calor depende do tempo de exposição e da geometria do produto (CHEFTEL, 1995).

A alta pressão é uma tecnologia que atende potencialmente a muitos, se não todos, dos mais recentes desafios enfrentados pela indústria de alimentos, uma vez que possibilita o tratamento de produtos mantendo as qualidades dos alimentos frescos e a conveniência e lucratividade associada à extensão da sua vida útil (NORTON & SUN, 2008).

A pressurização é realizada em espaço confinado contendo fluído (no caso da pressão hidrostática é a água) que atua como o meio de transferência da pressão. A pressão é aplicada de forma igual em todas as direções o que permite aos sólidos manterem o seu formato original (CHEFTEL, 1995; FARKAS & HOOVER, 2000).

O primeiro produto processado por APH foi introduzido no mercado japonês em 1990 e, gradualmente, outros alimentos processados por essa técnica surgiram em outros países. Esta tecnologia tem sido aplicada com sucesso para a preservação de geléias, iogurtes, molhos, sobremesas prontas, sucos e polpas de frutas. No Japão é utilizada também para o descongelamento de peixe, estabilização de presunto e outros produtos de pescado (GRANT, PATTERSON & LEDWARD, 2000). No mercado americano foi lançada com sucesso na pasta de abacate (guacamole) (CAMPOS, DOUSUALDO e CRISTIANINI, 2003).

Fundamentalmente um sistema de APH (Figura 4) consiste de um recipiente de alta pressão (vaso), um sistema para geração de pressão, fluido condutor de pressão, controle de temperatura e da pressão e um recipiente para o acondicionamento do produto (CALDERÓNMIRANDA *et al.*, 1998).

Independentemente do sistema utilizado para o processamento por alta pressão, o equipamento básico é composto por 4 componentes: recipiente de pressão, sistema gerador de pressão, dispositivo para controle da temperatura e sistema operacional. A parte mais importante é o recipiente, pois é ele que suporta toda a pressão aplicada no processo (CHEFTEL, 1995; FARKAS & HOOVER, 2000).

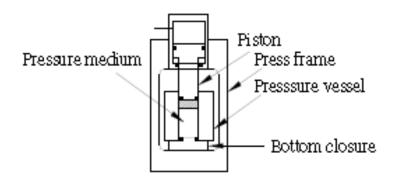


Figura 4. Sistema de APH - geração de pressão por compressão direta (DALAI, 2010).

O rendimento do processo é aprimorado pelo emprego de um meio de transferência da pressão, que no caso da hidrostática é a água que atua como meio de

transferência da pressão. Além da água, outros fluidos de baixa compressão como glicerol, álcool 70%, óleos comestíveis e emulsões aquosas de óleos comestíveis podem ser usados como meio de transferência. No entanto, a água oferece menores riscos quanto à possível contaminação (MEYER *et al.*, 2000).

De acordo com Meyer *et al.* (2000), os pontos críticos de controle do processamento de alimentos por alta pressão abrangem a temperatura interna do recipiente anteriormente à alimentação do produto; uniformidade de temperatura em diferentes pontos do produto, relação produto/fluído de pressurização no recipiente, integridade e hermeticidade da embalagem, pressão, tempo de pressurização, pressão máxima em cada pulso ou ciclo, temperatura do produto na pressão máxima em cada pulso ou ciclo, tempo em cada pulso ou ciclo, número de pulsos ou ciclos, frequência e formato dos pulsos ou ciclos, tempo de despressurização e das propriedades físico-químicas do produto (pH, composição centesimal, atividade de água, matriz do alimento).

Uma das vantagens desse processo sobre os convencionais é que a compressão isostática independe do tamanho e geometria do produto. A pressão aplicada e o tempo de aplicação dependem do tipo do produto a ser tratado e do produto final desejado (TORREZAN, 2003).

## 3.4.2 Efeito da APH sobre os microrganismos

Os primeiros estudos que avaliaram o efeito da pressão hidrostática sobre microrganismos em alimentos foram realizados na França, por CERTES (1884), e nos Estados Unidos, por HITE, entre 1899 e 1914.

O tratamento de APH pode garantir a destruição de até 8 ciclos logarítmicos de células bacterianas, sem alterar o sabor e o valor nutricional dos alimentos (KALCHAYANAND *et al.*, 1998). Segundo HOOVER *et al.* (1989), as causas da inativação microbiana são ainda pouco compreendidas. Várias mudanças morfológicas são observadas com o aumento da pressão: compressão de vacúolos gasosos, alongamento da célula, separação da membrana da parede celular, contração da parede celular com a formação de poros, modificações no citoesqueleto, modificações no núcleo e em organelas intracelulares (acima de 400 MPa, no caso de Sacharomyces), coagulação de proteínas citoplasmáticas, liberação de constituintes intracelulares (especialmente os de origem nuclear) para fora da célula, entre outros (CHEFTEL, 1995).

Uma hipótese para inativação microbiana por APH está ligada à redução da atividade da ATPase, dependente de sódio e potássio, localizada na capa de fosfolipídios da membrana celular e envolvida no transporte ativo através da membrana. Desta forma, a ATPase torna-se incapaz de manter o fluxo de prótons provocando redução do pH interno e causando a morte celular (CHEFTEL, 1995). A membrana celular é a parte da célula que mais é atingida pela alta pressão. Ela provoca mudanças na organização molecular do complexo lipídeo-peptídeo rompendo a estrutura da membrana de dupla camada de ácidos fosfatídicos. Na reorganização da membrana, ocorrem alterações na função de proteínas que controla a permeabilidade de íons e, assim, a membrana perde sua funcionalidade. Ainda há a perda de RNA e proteínas para o meio extracelular devido ao colapso da membrana (PATTERSON, 2005; PRÉSTAMO & ARROYO, 1998).

A capacidade do processo da alta pressão de destruir e/ou inativar microrganismos irá variar de acordo com o tipo de microrganismo e sua fase de crescimento, a composição do meio, o nível de pressão, o tempo de exposição e a temperatura durante o tratamento (SUN, 2005; CAMPOS *et al.*, 2003; ROSENTHAL,

SILVA, 1997). As bactérias Gram positivas são mais resistentes aos efeitos da APH do que as Gram negativas. Essa sensibilidade é também dependente do formato da bactéria, sendo os bastonetes mais sensíveis que os cocos. Os fungos filamentosos e leveduras são muito sensíveis, enquanto que os vírus são bastante resistentes (CHEFTEL, 1995). Certos esporos bacterianos apresentam alta resistência ao calor, à radiação e à homogeneização, bem como resistência à pressão (ROSENTHAL & SILVA, 1997).

A inativação dos esporos também pode ser atingida aplicando-se ciclos de alta pressão que alteram a permeabilidade e acabam por danificar a parede celular. Os esporos são inativados mais rapidamente em pHs baixos, porém a germinação induzida pela pressão é mais rápida a pH neutro (SMELT, 1998). A parede celular das bactérias Gram positivas é mais fina (apresentam membrana externa), quando comparada com a estrutura das Gram negativas. A rigidez da parede celular confere fragilidade à estrutura em função da pouca flexibilidade frente à aplicação da APH (CAMPOS, 2003).

Como a alta pressão afeta somente as ligações químicas não covalentes, os microrganismos são inativados sem afetar significativamente as moléculas dos componentes do alimento. As reações bioquímicas da célula são afetadas uma vez que muitas enzimas são inativadas sob altas pressões (FELLOWS, 2006; PATTERSON, 2005).

#### 3.4.3 Efeito da APH sobre as enzimas

Enzimas são classes especiais de proteínas na qual a atividade biológica surge a partir de um sítio ativo, mantido pela conformação tri-dimensional da molécula. Pequenas mudanças no sítio ativo podem levar à perda de atividade de certas enzimas. Como a desnaturação protéica é associada a mudanças conformacionais, ela pode afetar a funcionalidade bioquímica de determinada enzima, como por exemplo, através do aumento ou perda da atividade biológica e das mudanças na especificidade do substrato (HENDRICKX *et al.*, 1998).

Muitas enzimas podem ter suas atividades moduladas sob alta pressão hidrostática, por exemplo, a especificidade das proteases. Isso é possível porque, em valores de pressão menores que 200 MPa, a estabilidade e a funcionalidade de muitas enzimas não se alteram (BUTZ & TAUSCHER, 2002).

A aplicação de altas pressões em alimentos promove também a desnaturação ou modificação proteica, ativação ou inativação enzimática e mudanças nas interações substrato-enzima (BUTZ & TAUSCHER, 2002). As variáveis do processo de APH tais como (pressão, temperatura e tempo), a composição do alimento e do tipo de enzima, irão influenciar a inativação enzimática (CANO, DE ANCOS & SÁNCHEZ-MORENO, 2005).

As peroxidases (POD) e polifenoloxidases (PFO) presentes na maioria dos vegetais são as principais responsáveis por alterações indesejáveis das características originais, principalmente as de cor. A APH pode ser aplicada visando à inativação dessas enzimas, para que o escurecimento enzimático e as mudanças na aparência e nas propriedades sensoriais não ocorram (HENDRICKX *et al.*, 1998).

A Pectina Metil Esterase (PME) é responsável pela desestabilização de sucos de laranja, gelatinização de concentrados e perda de consistência de produtos de tomate (CAMPOS, 2003). Tem sido reportado que tratamentos sob pressões de aproximadamente 600 MPa podem inativar parcialmente (acima de 90%) a PME da laranja (HENDRICKX *et al.*, 1998), a qual não é reativada durante o armazenamento e transporte. A peroxidase (POD) causa mudanças prejudiciais no sabor durante a estocagem. É uma das enzimas de origem vegetal mais resistente ao processamento térmico e tem se mostrado bastante resistente à pressão (CAMPOS, 2003). A atividade

de Polifenoloxidase (PFO), a qual resulta em um escurecimento enzimático de frutos ou vegetais danificados, se mostrou mais estável à inativação em alguns alimentos e mais sensível em outros se aplicando a alta pressão (GOMES *et al.*, 1996; ESHTIAGHI et al.; HENDRICKX *et al.*, 1998).

#### 3.4.4 Efeito da APH sobre os constituintes nutricionais

Os alimentos possuem diversos compostos que podem atuar com propriedades antioxidantes, entre os mais estudados estão as vitaminas A, C e E, o selênio e o zinco e compostos fenólicos. O tratamento por alta pressão afeta a estabilidade de vitaminas e o rendimento da extração de compostos bioativos. Uma vez que vitaminas e fenólicos representam a maioria dos antioxidantes presentes nos vegetais, a atividade antioxidante também poderá sofrer alterações (OEY et al., 2008).

Em geral, os compostos fenólicos mostram-se relativamente resistentes aos efeitos da alta pressão. Os níveis de fenólicos em polpa de morango processada a 600 MPa aumentaram significativamente em comparação com a amostra não-tratada. Esse aumento pode estar relacionado ao aumento na extratabilidade de alguns compostos após o processamento por alta pressão (PATRAS *et al.*, 2009).

A alta pressão, em geral, tem pouco efeito sobre a estabilidade dos carotenóides em alimentos. Em outro estudo com suco de laranja processado por alta pressão (400 MPa/40°C/1 minuto) observou-se um aumento na extração dos carotenóides (53,88%) e no teor de pró-vitamina A (38,74%) (SANCHEZ-MORENO *et al.*, 2005). O aumento na extratabilidade deveu-se possivelmente à desnaturação do complexo proteínacarotenóide, induzida por pressões acima de 300 MPa (HENDRIKX *et al.*, 1998).

Polydera *et al.* (2003), ao compararem a perda de vitamina C em sucos de laranja pasteurizado (80°C por 30 segundos) e pressurizado (500MPa por 5 minutos a 35°C), observaram uma menor perda da referida vitamina no produto pressurizado. Ogawa *et al.* (1990), em pesquisa com sucos de frutas cítricas, avaliaram o conteúdo de vitamina C, antes e após o tratamento de alta pressão à 500MPa por 10 minutos a 20°C, e notaram uma concentração pós-processo foi equivalente à original de 27,2 mg/100 g de suco, ou seja, não houve nenhuma alteração no teor desse composto com o processo. Butz *et al.* (2003), ao estudarem a concentração de carotenóides e licopeno em tomates pressurizados, observaram que, mesmo após 60 minutos de tratamento de altas pressões, nenhuma alteração foi detectada na concentração total de carotenóides totais e de licopeno.

De acordo com os resultados apresentados, pode-se verificar que o processamento que utiliza ultra alta pressão hidrostática é um dos que menos degrada as vitaminas hidrossolúveis, contribuindo dessa forma para preservar a qualidade nutricional dos alimentos. A preservação de vitaminas e compostos responsáveis pelo aroma e sabor se deve ao fato da APH destruir ligações iônicas, hidrofóbicas e de hidrogênio dos alimentos, sem afetar as ligações covalentes. Somente ligações responsáveis pela estabilização de estruturas tridimensionais de moléculas como proteínas e polissacarídeos são alteradas (ALPAS e BOZOGLU, 2003; ROSENTHAL e SILVA, 1997).

Estudando o efeito da alta pressão hidrostática sobre carotenos e xantofilas da polpa de cajá (*Spondias mombin* L.), Ferreira (2011) observou que as concentrações de todos os trans-carotenóides não diferiram significativamente entre as amostras pressurizadas e as amostras-controle. O autor concluiu que a estabilidade dos carotenóides em alimentos submetidos a APH dependeu do binômio pressão/tempo e que houve uma tendência de diminuição de trans-carotenóides, porém em grau muito menor que nos processamentos convencionais, especialmente os térmicos.

Em relação ao efeito do tratamento de alta pressão sobre carotenóides totais em polpa de cajá, Tiburski (2009) reportou que a amostra controle de polpa diferiu apenas do tratamento utilizando 400 MPa por 15 min, que foi o tratamento mais severo entre os testados. Porém, o referido tratamento não diferiu significativamente dos demais, os mais brandos testados. Esse mesmo comportamento foi observado para os teores de  $\beta$ -caroteno e  $\beta$  criptoxantina.

Em suco de laranja, De Ancos *et al.* (2002) observaram um aumento significativo nos teores dos carotenóides totais nas pressões de 100 e 300MPa, de 23 e 43%, respectivamente. Resultado semelhante foi obtido por SÁNCHES-MORENO *et al.* (2003) em suco da mesma cultivar de laranja, onde a pressurização elevou a extratabilidade dos carotenóides com valores maiores a 400MPa/40°C/1minuto. Em suco misto de laranja, cenoura e limão submetido a pressurização a 500 e 800MPa, os teores de α-caroteno e β-caroteno não foram afetados (FERNÁNDEZ-GARCIA e BUTZ., 2001).

#### 3.5 Atividade Antioxidante

Os compostos antioxidantes podem ser definidos como qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações em relação ao substrato oxidável, retarda consideravelmente ou inibe sua oxidação. Biologicamente são capazes de proteger os sistemas biológicos contra efeitos potencialmente danosos de processos ou reações que promovem a oxidação de macromoléculas ou estruturas celulares (GRANADA; ZAMIAZI; MENDONÇA, 2004). Entre os compostos antioxidantes incluem-se os fenólicos, vitamina E, carotenóides, ácido ascórbico, entre outros (ARAÚJO, 2004). As frutas são fontes significativas de antioxidantes. Neste contexto, o Brasil é destaque, visto que possui uma produção elevada de diferentes variedades de frutíferas nativas, o que é decorrência da extensão do território e sua inserção, em grande parte, nas zonas de clima tropical e temperado (GRANADA; ZAMIAZI; MENDONÇA, 2004).

O conhecimento de substâncias com atividade antioxidante presentes nos alimentos, das quais muitas ainda não foram suficientemente estudas, destaca-se tanto pela possibilidade de ter aproveitamento como alimentos funcionais quanto pelo fornecimento de compostos que se enquadram como nutracêuticos (ANDRADE-WARTHA, 2007).

Estudos epidemiológicos têm evidenciado que dietas ricas em frutas e verduras, conferem um efeito protetor contra doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer, devido, em parte, aos antioxidantes contidos nestes alimentos (RODRIGUES *et al.*, 2003; LIMA *et al.*, 2002; MELO *et al.*, 2006). Aliado a isto, indústria alimentícia vem há anos utilizando os benefícios dos antioxidantes para preservar e/ou melhorar a qualidade de produtos. Este interesse tem levado à crescente demanda por pesquisas por novos antioxidantes naturais e a maior atenção em novas fontes destes antioxidantes (MANCINI-FILHO, 1998).

Os estudos sobre radicais livres e o desenvolvimento de novos métodos para avaliação de atividade antioxidante (AA) têm também aumentado consideravelmente nos últimos anos. As descobertas do efeito deletério dos radicais livres sobre as células e sua relação com certas doenças, agindo como causador ou agravante, impulsionaram a busca por novas substâncias capazes de prevenir ou minimizar os danos oxidativos às células vivas (CASTRO, 2010).

A importância funcional desses compostos na saúde humana tem levado inúmeros pesquisadores a realizarem estudos buscando determinar suas concentrações

nos alimentos mais consumidos e em especial nas frutas. Espécies reativas de oxigênio (ROS) são produzidas naturalmente no organismo de mamíferos, como resultado do metabolismo oxidativo e podem causar danos celulares às membranas e ao DNA, propiciando mutações, o que pode desencadear a carcinogênese, e também promover a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e, assim, contribuir como fator de promoção de doenças coronarianas (RAHMAN; ADCOCK, 2006).

Esse desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que resulta da indução de danos celulares pelos radicais livres tem sido chamado de estresse oxidativo. Além das defesas antioxidantes enzimáticas, os antioxidantes não enzimáticos, supridos pela dieta, também participam do sistema de defesa antioxidante do organismo.

Segundo Bianchi e Antunes (1999), os antioxidantes agem em diferentes níveis na proteção dos organismos. O primeiro mecanismo de defesa contra os radicais livres é impedir a sua formação, principalmente pela inibição das reações em cadeia com ferro e o cobre. O segundo, pela interceptação de radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre lipídios, aminoácidos das proteínas e bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular.

A capacidade antioxidante dos alimentos depende de muitos fatores, incluindo as propriedades coloidais dos substratos, as condições e fases de oxidação, e de localização dos antioxidantes em diferentes fases (FRANKEL E MEYER, 2000).

Muitos métodos têm sido desenvolvidos para avaliar a atividade antioxidante *in vitro* de substâncias biologicamente ativas, envolvendo desde ensaios químicos com substratos lipídicos a ensaios mais complexos utilizando as mais diversas técnicas instrumentais. Eles avaliam a eficácia de moléculas em impedir as reações oxidativas Os testes *in vitro* têm se tornado importantes ferramentas que auxiliam na busca por substâncias bioativas, bem como na seleção de matéria-prima para estudo (ALVES, 2010).

A atividade antioxidante não pode ser medida diretamente, mas sim pelos efeitos do antioxidante em controlar a extensão da oxidação. Os testes antioxidantes em alimentos e sistemas biológicos podem ser classificados em dois grupos: os ensaios usados para avaliar peroxidação lipídica, no qual um lipídio ou substrato lipoprotéico sob condições padrão é usado e o grau de inibição da oxidação é medido, e os ensaios usados para medir a habilidade de sequestro de radicais livres (ANTOLOVICH *et al.*, 2002). A capacidade antioxidante pode ser expressa por meio de vários parâmetros, incluindo a remoção de um radical peroxil (ORAC - *oxygen radical absorbance capacity*) sendo este método utilizado para realização deste estudo em polpa de pitanga.

O Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) é um método que se baseia na propriedade fluorescente de proteínas. O método consiste na medida do decréscimo da fluorescência das proteínas, como consequência da perda de sua conformidade ao sofrer dano oxidativo (Figura 5). O método do ORAC envolve a transferência de hidrogênio, sendo empregado um iniciador radical azo (AAPH), um probe molecular (fluoresceína) e amostra com atividade antioxidante.

A atividade antioxidante de uma dada substância é determinada através da diferença entre a área da amostra subtraída pela área do branco (Net AUC), medida pelo decaimento da fluorescência com a adição da substância antioxidante no decorrer do tempo. Usando-se Trolox de concentrações conhecidas, uma curva padrão é gerada e a atividade ORAC da amostra é calculada. Este ensaio expressa o resultado em unidade de ORAC ou equivalentes de Trolox, o qual corresponde à quantidade de Trolox em micromols que tem a mesma atividade antioxidante de um litro da solução testada (ALVES, 2010).

**Figura 5.** Mecanismo proposto para a oxidação da fluoresceína por AAPH. Fonte: Alves, 2010.

O método ORAC possui uma vantagem muito importante com relação aos outros métodos de determinação da capacidade antioxidante que usam a absorvância, que é o uso da fluorescência como medida do dano oxidativo, pois, assim, ocorre menor interferência dos compostos coloridos presentes nas amostras. Isso é fator importante a se considerar quando se analisam alimentos coloridos (especialmente frutos e hortaliças), suplementos de produtos naturais e vinho tinto (ALVES, 2010).

# **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### 4.1 Material

# 4.1.1 Polpa de pitanga (Eugenia uniflora L.)

Nesse estudo foi utilizada polpa de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) fornecida pela empresa De Marchi Indústria e Comércio de Frutas LTDA, Jundiaí - SP, não pasteurizada e congelada, obtida conforme fluxograma da Figura 6 (informado pela empresa processadora).

Após o despolpamento dos frutos, a polpa foi acondicionada em embalagens plásticas de polietileno com capacidade de 1 kg, as quais foram seladas e imediatamente congeladas. Posteriormente foi enviada à Embrapa Agroindústria de Alimentos, onde ficou armazenada à -18° C até o momento de serem utilizadas nos experimentos.

O néctar de pitanga utilizado na análise sensorial foi formulado a partir da polpa no Laboratório de Análise Sensorial da Embrapa Agroindústria de Alimentos. Para preparação de cada amostra, foram medidas em proveta de 1000 mL a quantidade de polpa desejada, pesado em balança à quantidade de açúcar já calculada e posteriormente em proveta de 1000 mL foi medida a quantidade de água para completar o volume final de néctar desejado com adequada diluição.

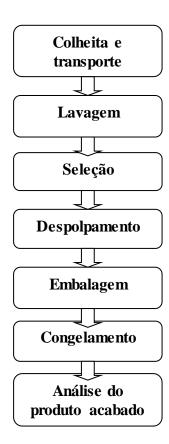


Figura 6. Fluxograma de obtenção da polpa de pitanga

### 4.2 Métodos

## 4.2.1 Planejamento experimental

Visando investigar o efeito da alta pressão na polpa de pitanga, diferentes condições de processos foram realizadas. Os experimentos foram executados variandose a pressão (300 MPa, 400 MPa e 500 MPa), a temperatura (25°C, 30°C e 35°C) e o tempo (5 minutos, 10 minutos e 15 minutos) seguindo delineamento experimental (2³), com 11 corridas (*runs*) (Tabela 4) incluindo três repetições do ponto central. A temperatura foi mantida através de banho de água termostático.

**Tabela 4.** Planejamento experimental do estudo sobre polpa de pitanga pressurizada.

Corridas (Run)	Pressão (MPa)	Temperatura (C°)	Tempo (minutos)
1	300	25	5
2	300	25	15
3	500	25	5
4	400	25	15
5	300	35	5
6	300	35	15
7	500	35	5
8	500	35	15
9	400	30	10
10	400	30	10
11	400	30	10

As 11 amostras de polpa de pitanga foram analisadas em relação às características microbiológicas, atividade antioxidante e cor instrumental.

# 4.2.2 Processamento da polpa de pitanga por APH

O processamento da polpa de pitanga do delineamento acima descrito foi realizado em equipamento isostático Stansted Food Lab 9000 (Stansted Fluid Power, UK), com câmara de pressão com capacidade nominal de 250 mL e câmara de operação chegando até 900 MPa, delineado para utilização em ambiente laboratorial. O aparelho possui um vaso de pressão encamisado conectado a um banho d'água termostático, permitindo a refrigeração ou aquecimento durante o processamento. O meio de pressurização utilizado, seguindo informações do fabricante foi a mistura de água e etanol (30/70 v/v). Os ensaios foram realizados na Planta Piloto II da Embrapa Agroindústria de Alimentos (RJ). A polpa de pitanga foi descongelada, colocada em sacos de polietileno resistentes à pressão com aproximadamente 100 mL. As embalagens foram termo-seladas, evitando-se a presença de ar no seu interior. O procedimento foi realizado de acordo com o fluxograma (Figura 7). A Figura 8 mostra embalagens sendo inseridas no vaso de pressão e o equipamento de APH utilizado nos experimentos deste estudo.

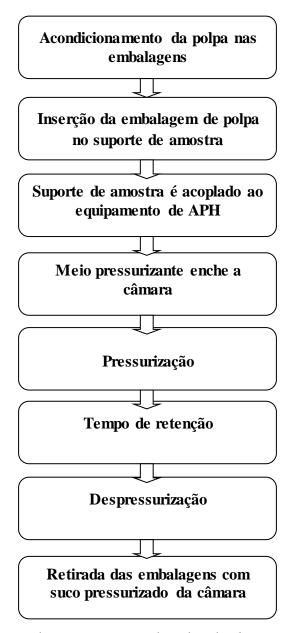
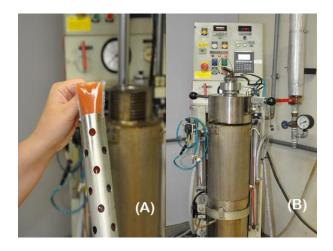


Figura 7. Fluxograma de processamento da polpa de pitanga por APH



**Figura 8.** (A) Embalagens sendo inseridas no suporte de amostra e (B) equipamento de Alta Pressão Hidrostática

# 4.2.3 Análises microbiológicas da polpa de pitanga

As análises foram realizadas segundo a Instrução Normativa de número 01, de 7 de janeiro de 2000 (MAPA) (BRASIL,2000), ratificada pela RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) que determina os seguintes parâmetros: coliformes à 45°C/g, *Salmonella* sp/25g, contagem de bolores e leveduras. As análises microbiológicas da polpa controle (sem pressurizar) e nas polpas processadas por APH obtidas a partir do delineamento mostrado na Tabela 4 foram realizadas pelo Laboratório de Microbiologia da Embrapa Agroindústria de Alimentos – RJ.

# *4.2.3.1 Coliformes a 45°C*

Através de colorimetria utilizando meios de cultura líquidos em duplicata, aplicando-se a técnica do número mais provável (NMP), método descrito no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (KORNACKI & JOHNSON, 2001) foram realizadas as análises de coliformes a 45° C nas amostras.

### 4.2.3.2 Salmonella sp/25g

Seguindo a metodologia descrita no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (WALLACE *et al.*, 2001) foi realizada a detecção em duplicata de salmonela nas amostras.

### 4.2.3.3 Contagem de bolores e leveduras

A análise de fungos filamentosos e leveduras foi realizada de acordo com o método descrito no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (BEUCHAT & COUSIN, 2001), através da técnica de plaqueamento em profundidade (*pour plate*) em meio de Agar Batata Dextrose acidificado com solução esterilizada de ácido tartárico a 10% para ajuste de pH, a  $3.5 \pm 0.1$ . Os resultados foram expressos em UFC/g de polpa (FDA, 2001).

### 4.2.3.4 Contagem Padrão em placas de aeróbios mesófilos

Seguindo a metodologia descrita no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* foi realizada a detecção em duplicata de aeróbios mesófilos nas amostras.

### 4.2.4 Determinações físico-químicas

As seguintes determinações físico-químicas foram realizadas na polpa de pitanga controle (não pressurizada). Nenhuma análise foi realizada nas polpas pressurizadas pois a pressurização não altera os parâmetros considerados neste estudo.

## 4.2.4.1 pH

O pH foi verificado segundo AOAC (2010), método 981.12 n° 42.1.04, empregando-se um medidor de pH (potenciômetro) previamente calibrado com ajuste automático de temperatura, operando-o de acordo com instruções do fabricante, realizando quatro repetições.

### 4.2.4.2 Sólidos solúveis (°Brix)

Os sólidos solúveis totais (°Brix) foram determinados pelo método refratométrico, seguindo a metodologia descrita pela AOAC (2010) e os resultados expressos em °Brix.

### 4.2.4.3 Acidez, total titulável

As determinações de acidez total foram realizadas através do método acidimétrico pela titulação de alíquotas de polpa com NaOH 0,1 N até o pH 8,1, conforme AOAC (2010), método 942.15, sendo o resultado expresso em g de ácido cítrico anidro por 100 g de polpa.

### 4.2.4.4 Fibra alimentar

teor de fibra alimentar total foi determinado pelo método O enzimático/gravimétrico (Método AOAC 985.29). Esse método baseia-se gelatinização e hidrólise parcial do amido com uma alfa-amilase termorresistente, seguida de hidrólise da proteína com uma protease e hidrólise do amido residual com uma amiloglucosidase.

# 4.2.4.5 Determinação de cor instrumental

A análise instrumental de cor foi realizada nas polpas *in natura* e processadas seguindo o delineamento mostrado na Tabela 4. Os parâmetros de cor foram avaliados por reflectância no equipamento Color Quest XE, com escala CIELAB e CIELCh, com abertura de 0.375 mm de diâmetro, iluminante D65/10. As amostras *in natura* e referentes aos 11 *runs* do planejamento experimental, totalizando 12 amostras, foram dispostas em cubeta de 10 mm de quartzo, sendo realizadas quatro repetições em cada amostra. Os parâmetros medidos foram L = luminosidade (0 = preto e 100 = branco); a\* (-80 até zero = verde, do zero ao +100 = vermelho); b\* (-100 até zero = azul, do zero ao +70 = amarelo); C\* chroma =  $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  em um sistema de coordenadas polares; h° ângulo hue= arctan ( $b^*/a^*$ ) em um sistema de coordenadas polares.

### 4.2.4.6 Atividade antioxidante

Para a determinação da atividade antioxidante foi utilizado o método *Oxigen Radical Absorbance Capacity* (ORAC), com fluoresceína como molécula fluorescente em colorímetro de microplaca, de acordo com Zuluetta, Esteve, Frígola, (2009). Foram avaliadas as 11 amostras correspondentes aos tratamentos do planejamento experimental (Tabela 4) e a amostra controle (não pressurizada) de polpa de pitanga.

A extração foi realizada seguindo metodologia descrita por Rufino *et al.* (2007) em duplicada pesando-se 1g de polpa de pitanga. Informação sobre as especificações de leitura são apresentadas na Tabela 5.

**Tabela 5.** Especificações de leitura do programa do equipamento Espectro Fluorímetro R Chisto – modelo infinite M200 da Tecan

Excitação  $\lambda = 485$  nm; Emissão  $\lambda = 535$  nm. Fenda de Excitação = 20 nm; Fenda de Emissão = 10 nm. Ave Time = 0,2 sec. Tempo de execução = 180 min.

Para o preenchimento da micro placa, transferiu-se, em ambiente escuro, alíquota de 80  $\mu$ L do branco (Tampão fosfato), de cada concentração da curva do padrão Trolox (20,0  $\mu$ M, 30,0  $\mu$ M, 40,0  $\mu$ M, 60,0  $\mu$ M, 80  $\mu$ M, 100  $\mu$ M e 120  $\mu$ M) e de

cada amostra, para uma microplaca preta de 96 poços, colocando-se cada concentração em um poço distinto e no sentido em que o equipamento realizava as leituras, conforme a Figura 9. Foram utilizadas três repetições para o branco, para cada concentração da curva e para cada amostra extraída em duplicata, devido à possibilidade de erros durante a leitura.

			P	. (	R								
		1	<b>2</b>	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	A												
	В												
	C				C1	C1	C1	C2	C2	C2	A1	A1	A1
,	D	<b>A</b> 1	<b>A</b> 1	<b>A</b> 1	A2	A2	A2	<b>A</b> 2	<b>A</b> 2	<b>A</b> 2	A3	A3	A3
	E	<b>A</b> 3	<b>A</b> 3	<b>A</b> 3	A4	A4	A4	A4	A4	A4	A5	A5	A5
	F	<b>A</b> 5	<b>A</b> 5	<b>A</b> 5	A6	A6	A6	<b>A</b> 6	<b>A</b> 6	<b>A</b> 6	A7	A7	A7
	G	<b>A</b> 7	<b>A</b> 7	<b>A</b> 7	A8	A8	A8	<b>A</b> 8	<b>A</b> 8	<b>A</b> 8	A9	A9	A9
	H	<b>A</b> 9	<b>A</b> 9	<b>A</b> 9	A10	A10	A10	A10	A10	A10	X	X	X
	H A9 A9 A9 A10 A10    Tampão (Branco)   Padrão 0 (trolox)   Padrão 20 μΜ   Padrão 40,0 μΜ   Padrão 60,0 μΜ   Padrão 100 μΜ   Padrão 120 μΜ   Padrão 120 μΜ					A=a $A=a$	amostra amostra duplica fluoresc	ıs ta da a	mostra	ı			

Figura 9. Esquema de preparação da microplaca para leitura.

Após acoplar a placa no aparelho, foram adicionados automaticamente 200  $\mu L$  de solução de fluoresceína (78 nM) nos compartimentos H10,H11,H12, uma única vez, agitada a placa automaticamente no modo duplo orbital e realizada a leitura da fluorescência 15 vezes, para estabilizar a temperatura da placa e soluções. Na etapa seguinte, caracterizada como a análise propriamente dita, foram dispensados nos compartimentos contendo amostras, branco e padrões, 80  $\mu L$  de fluoresceína, 40  $\mu L$  de AAPH (221 nM). Posteriormente foi realizada a leitura de fluorescência pelo modo cinético dos poços por 80 vezes com intervalo de 120 segundos (*delay*) entre as leituras. Os compartimentos H10, H11, H12, os quais deverão conter apenas 200 $\mu L$  de fluoresceína, servirão de referência para as outras leituras. Para realização do ensaio, foram adicionados 80  $\mu L$  de amostra ou padrão (Trolox) + 80  $\mu L$  de FL (78 nM) + 40 $\mu L$  de AAPH (221mM), perfazendo um volume total de 200  $\mu L$  em cada poço da microplaca.

Utilizando o programa computacional PRISMA os dados de leitura oriundos da fluorescência em relação ao tempo foram plotados. Calculou-se a área abaixo da curva (AUC) e, em seguida foi construída uma curva de calibração utilizando a diferença entre a AUC dos padrões em relação a concentração das soluções e a AUC do branco. Para o cálculo da atividade antioxidante das amostras utilizou-se a equação abaixo:

ORAC (µmol Trolox.g<sup>-1</sup>) = 
$$\frac{\frac{[(AUC_{amostra} - AUC_{branco}) - b]}{a}}{concentracao\ amostra}$$

Onde;

b é valor onde a curva intercepta o eixo Y, a é o valor da inclinação da curva; Concentração da amostra é a massa em g em um litro de solução (g.L<sup>-1</sup>)

## 4.2.5 Avaliação sensorial

# 4.2.5.1 Determinação da diluição "ideal" e doçura "ideal" para a formulação de néctar de pitanga

Para a determinação da doçura e diluição "ideal" foi utilizada a escala relativa ao ideal (DELIZA, 2001) e 100 consumidores de suco de frutas participaram do estudo. Os testes foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial e Instrumental da Embrapa Agroindústria de Alimentos (LASI) - RJ. O primeiro teste compreendeu a determinação da doçura "ideal" e o segundo, a determinação da diluição "ideal". Para a determinação da doçura "ideal" foram utilizadas cinco diferentes concentrações de sacarose. As concentrações testadas foram: 6%, 8%, 10%, 12% e 14%, mantendo a mesma concentração de polpa em todas as amostras (35%). Utilizando o resultado obtido com relação à doçura "ideal", cinco diferentes concentrações de polpa, foram apresentadas aos consumidores. As concentrações testadas foram: 25%, 30%, 35%, 40% e 45%. As formulações foram apresentadas aos participantes de forma monádica e balanceada (MacFIE et al., 1989) em duas sessões distintas, à 8°C em copos plásticos descartáveis codificados com três algarismos, em cabides sensoriais individuais sob iluminação branca. Água e biscoitos foram oferecidos para lavar o palato entre as amostras. Neste estudo foi utilizado escala não estruturada de 9 cm, ancorada nos extremos com as expressões "muito menos doce que o ideal" e "muito mais doce que o ideal" quando a doçura da polpa foi avaliada. Para diluição ideal foram utilizadas as expressões: "muito menos concentrado que o ideal" e "muito mais concentrado que o ideal". O ponto central das duas escalas continha a expressão "ideal". A coleta de dados foi realizada no software FIZZ e a avaliação dos participantes foi transformada em dados numéricos (0 a 9) os quais foram analisados através de regressão linear simples utilizando o software XLSTAT (2012).

## 4.2.5.2 Teste de aceitação e check all that apply (CATA)

No teste de aceitação e CATA foram utilizadas seis amostras de néctares de pitanga, a saber: o néctar preparado a partir da polpa pressurizada (300MPa /5 min./25°C, identificada após o ensaio microbiológico), o néctar proveniente da polpa controle (não pressurizada) e de quatro polpas de marcas comerciais distintas. Todos os néctares possuíam 6% de concentração de sacarose e 35 % de polpa em sua constituição. O teste foi realizado no LASI da Embrapa Agroindústria de Alimentos em cabines individuais, sob iluminação branca, no qual participaram 94 consumidores de suco de frutas, de ambos os sexos e idade variando de 18 a 60 anos.

Foram servidos 30 mL de cada uma das amostras à temperatura de  $10 \pm 2^{\circ}$  C de forma monádica, balanceada e aleatória, em copos plásticos descartáveis de 50 mL,

codificados com números de três algarismos. Junto às amostras foi oferecida água mineral à temperatura ambiente para a limpeza do palato.

A aceitação as amostras foram avaliadas em escala hedônica estruturada de 9 pontos (9 = gostei extremamente, 5 = não gostei nem desgostei, 1 = desgostei extremamente). O questionário CATA foi composto por uma lista de 20 atributos (Anexo A) apropriados às amostras analisadas, onde os consumidores foram orientados a marcar aqueles que descreviam a amostra analisada. Os termos foram selecionados com base em outros estudos (MARCELLINE, 2006; PONTES, 2008; TIBURSKI, 2009) bem como em discussões abertas com os provadores treinados.

Os dados do teste de aceitação foram analisados por análise de variância , considerando o consumidor e a amostra como fontes de variação. Os valores de média e as diferenças significativas (p < 0,05) entre elas foram calculadas pelo teste de Tukey. A frequência da citação de cada termo sensorial foi determinada pela contagem do número de consumidores que o empregaram para descrever cada amostra do néctar de pitanga. A análise múltipla de fatores (AMF) foi utilizada nos dados de frequência do questionário CATA.

# 4.2.5.3 Avaliação da vida útil do néctar de pitanga

Os néctares foram avaliados por consumidores para identificar até quantos dias após o processamento estariam aptos para consumo em termos sensoriais utilizando a metodologia denominada análise de sobrevivência (HOUGH, 2003). Análises microbiológicas (coliformes, leveduras e bolores), mostraram que as amostras estavam aptas para o consumo.

O estudo foi realizado com 112 consumidores de suco de frutas, sendo 65 deles funcionários e estagiários da Embrapa Agroindústria de Alimentos e 47 clientes recrutados em Hortifruti da cidade do Rio de Janeiro. As amostras foram avaliadas nos tempos de armazenamento zero, sete, quatorze, vinte e um, vinte e oito e trinta e cinco dias sob-refrigeração à 5 °C, armazenadas em embalagens plásticas de polietileno com capacidade de 1Kg termo seladas. Foram servidos 30 mL de cada uma das amostras à temperatura de aproximadamente  $10 \pm 2^{\circ}$  C de forma monádica, balanceada, em copos plásticos descartáveis de 50 mL, codificados com números de três algarismos. Junto às amostras foi oferecida água mineral à temperatura ambiente para a limpeza do palato.

Cada consumidor avaliou sete amostras de néctar de pitanga (correspondente aos seis períodos de armazenamento e mais o tempo zero do néctar controle (não pressurizado). Para cada amostra, os provadores tiveram que responder a pergunta: "Você consumiria este produto? Sim ou Não? Foi explicado aos participantes a condição de consumo, ou seja, se eles comprassem o produto e ele estivesse armazenado em sua residência, se consumiriam ou não. Os consumidores também avaliaram o quanto gostaram de cada amostra utilizando escala hedônica estruturada de 9 pontos (9 = gostei extremamente, 5 = não gostei nem desgostei, 1 = desgostei extremamente) como pode ser visto no Anexo B.

# 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 5.1 Análises microbiológicas

A Tabela 6 apresenta a média dos resultados obtidos na caracterização microbiológica da polpa de pitanga controle (não pressurizada).

**Tabela 6.** Caracterização microbiológica da polpa de pitanga controle (não pressurizada) e o requerido pela Resolução Normativa do MAPA (BRASIL, 2000)

Determinações	Resultado	Resolução Normativa
Fungos filamentosos e Leveduras (UFC/g)	$< 1.0 \times 10^{1}$	$máx 5 x 10^3$
Coliformes a 45°C (NMP/g)	< 3	máx 1 g
Salmonella spp. (ausência em 25g)	Ausente	Ausente
Contagem padrão em placas de Aeróbios Mesófilos (UFC/g)	$1,24 \times 10^3$	10 <sup>4</sup> UFC.mL

Observa-se que a polpa de pitanga sem sofrer nenhum tratamento apresentou baixa contagem de fungos filamentosos e leveduras, 2 ciclos logarítmicos inferior ao máximo estabelecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000) e também ausência de *Salmonella* em 25g de amostra.

Fungos e leveduras são capazes de multiplicarem- se rapidamente em ambientes líquidos, os quais favorecem a dispersão das células. Estes microrganismos integram a microbiota natural de frutas e vegetais, podendo a população relativa variar, conforme influência do meio ambiente e das condições de colheita e armazenamento (GOLDMAN *et al*, 2004; FURLANETTO *et al*, 1982). Tais microrganismos são importantes especialmente como deteriorantes de alimentos, não possuindo expressão como microbiota patogênica. Salienta-se, no entanto, que a microbiota deteriorante é de fundamental importância para a indústria de sucos, à medida que tais microrganismos afetam o tempo de vida útil dos produtos (FARKAS; HOOVER, 2000).

A incidência de infecções causadas por fungos tem apresentado um considerável crescimento nos últimos anos, devido ao aumento do uso de drogas antineoplásicas, imunossupressoras e antibióticos de largo espectro, evidenciando seriedade do seu controle (TRINDADE, 2002). Além disto, outro fator preocupante é a presença de fungos termo resistentes, principalmente nos produtos derivados de frutas, que podem ser considerados um perigo potencial à segurança dos alimentos, principalmente por estarem associados à produção de micotoxinas (TOURNAS, 1994).

A legislação brasileira (BRASIL, 2001) não estabelece limites para a contagem de bactérias aeróbias mesófilas em sucos de frutas. Porém, a *American Public Health Association* (APHA, 2001) sugere o limite de 10<sup>4</sup> UFC.mL-1 para mesófilos aeróbios. As amostras de polpa de pitanga foram submetidas a essa análise a fim de verificar suas condições higiênico-sanitárias. Os resultados obtidos revelaram contagens padrão em placas de aeróbios mesófilos 1,24 x 10<sup>3</sup>.

O número de microrganismos aeróbios mesófilos (contagem em placa) encontrado em um alimento tem sido um dos indicadores microbiológicos da qualidade sanitária dos alimentos mais comumente utilizado, indicando se a limpeza, a desinfecção e o controle da temperatura durante os processos de tratamento industrial, transporte e armazenamento foram realizados de forma adequada. Todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas.

No estudo realizado por Souza (2009) em suco de manga os resultados sinalizaram que todas as oito amostras analisadas apresentaram elevada contaminação para este grupo, sendo o valor mínimo encontrado na embalagem de vidro, com 6 x 10<sup>5</sup> UFC.mL-1, e máximo no copo de plástico com 1,5 x 10<sup>8</sup> UFC.mL-1. Pinheiro (2006) avaliou a qualidade microbiológica de sucos de frutas integrais e relatou que apenas uma amostra de suco de caju apresentou contagem de microrganismos aeróbios mesófilos de 2,3 x 10<sup>2</sup> UFC/mL. Já para as amostras de suco de maracujá, uma delas apresentou contagem de leveduras de 2,3 x 10<sup>2</sup> UFC/mL e outra apresentou contagem de microrganismos mesófilos de 9,0 x 10<sup>2</sup> UFC/mL. Oliveira *et al.* (2006) avaliando as características microbiológicas do suco de laranja *in natura* encontraram valores de mesófilos variando entre 10<sup>5</sup> e 10<sup>6</sup> UFC.mL-1, na maior parte de suas amostras.

Considerando a ausência de *Samonella spp* na amostra *in natura* da polpa ficou constatada a não necessidade de realizar essa análise nas polpas processadas por alta pressão, decisão também ratificada pelas orientações do plano de amostragem determinado pela Resolução RDC número 12, de 02 de janeiro de 2001(ANVISA) (BRASIL, 2001).

Na Tabela 7 são apresentados os resultados das análises microbiológicas realizadas nas amostras de polpa de pitanga segundo o delineamento experimental utilizado.

**Tabela 7.** Contagem de coliformes à 45°C, aeróbios mesófilos e fungos filamentosos e leveduras nas amostras do planejamento experimental utilizado.

**Fungos filamentosos** Coliformes a 45° Aeróbios Mesófilos Tratamentos MPa/min /°C (NMP/g)(UFC/g) e leveduras (UFC/g) 300/5 min/ 25 <3  $<1.0 \times 10^{1}$  $< 1.0 \times 10^{-1}$ 300/15 min/25 <3  $4.0 \times 10^{2}$  $< 1.0 \times 10^{-1}$  $< 1.0 \times 10^{1}$ 500/5 min/ 25 <3  $<1.0 \times 10^{1}$  $5.5 \times 10^{1}$ 400/15 min/ 25  $<1.0 \times 10^{1}$ <3 300/5 min/35  $< 1.0 \times 10^{1}$ <3  $<1,0 \times 10^{1}$  $<1.0 \times 10^{1}$  $< 1.0 \times 10^{1}$ 300/15 min/35 <3 500/5 min/35  $<1.0 \times 10^{1}$  $< 1.0 \times 10^{1}$ <3 500/15 min/ 35  $<1.0 \times 10^{1}$  $< 1.0 \times 10^{1}$ <3  $< 1.0 \times 10^{-1}$ 400/10 min/ 30 <3  $<1.0 \times 10^{1}$ 400/10 min/ 30  $1.5 \times 10^{2}$  $< 1.0 \times 10^{1}$ <3

Considerando que a polpa de pitanga *in natura* (não pressurizada) já apresentava baixa contagem de fungos filamentosos e leveduras (Tabela 6) observa-se que tais resultados foram mantidos em todos os tratamentos do delineamento experimental, revelando, como já mencionada anteriormente, adequada característica sanitária dos frutos, apropriado processo de obtenção da polpa, assim como a adequada condição higiênica de manuseio na indústria.

 $<1.0 \times 10^{1}$ 

 $< 1.0 \times 10^{1}$ 

<3

400/10 min/ 30

Com relação à contagem padrão de mesófilos foi observada diferença entre os valores da polpa *in natura* e as 11 amostras pressurizadas, revelando que a pressurização diminuiu tais microrganismos. A aplicação de alta pressão pode causar danos à fisiologia microbiana e à viabilidade, tanto danificando as células como inativando-as. Assim, exercem efeito direto sobre a segurança do alimento, podendo prolongar a sua vida útil (LÓPEZ-CABALLERO *et al.*, 2002).

Marcellini (2006), no estudo com a polpa de abacaxi sob alta pressão, obteve redução a níveis inferiores aos limites preconizados pela legislação Brasileira com

tratamento a 300 MPa durante 5 minutos, à temperatura de 25°C. Ogawa *et al.* (1990) estudaram o efeito da pressão entre 100 e 600MPa em suco de tangerina (fresco, concentrado e acidificado) sobre diversas espécies de leveduras e fungos filamentosos. Os resultados mostraram que tratamentos à 350 MPa durante 30 minutos ou 400 MPa durante 4 minutos à temperatura ambiente permitiram a redução da carga microbiana em 5 unidades logarítmicas. Goodner *et al.* (1999) reportaram estabilidade microbiológica e enzimática por 90 dias em suco de laranja sob refrigeração tratado a 700MPa por 1 minuto. Palou *et al.* (1999), em estudo sobre inativação microbiana em polpas de banana (pressões de 517 MPa a 689 MPa por 10 minutos) obtiveram a redução da microbiota a valores inferiores a 10 UFC/g.

Pesquisas sobre a resistência de microrganismos específicos à APH também são recomendadas, em especial para o *Alicyclobacillus* spp. devido à capacidade de formação de esporos que sobrevive à pasteurização convencional e produção de sabores estranhos em sucos de frutas (ALPAS, ALMA & BOZOGLU, 2003; SILVA *et al.*, 1999).

Faz-se importante salientar que a sensibilidade dos microrganismos à alta pressão depende do meio em que se encontram. A efetividade do tratamento é também influenciada por fatores intrínsecos e extrínsecos ao alimento. O efeito da pressão sobre os microrganismos depende de fatores como espécie, formato, Gram, fase de crescimento e idade da cultura; a natureza do meio (pH, composição do alimento ou meio de dispersão, presença de sais e/ou nutrientes, atividade de água, força iônica e tipos de íons presentes); e também variáveis de pressão (níveis de pressão, tempo e temperatura e tipo do tratamento – contínuo ou descontínuo) (LÓPEZ-CABALLERO et al., 2002a; SAN MARTÍN et al., 2002; HUGAS et al. 2002, HALL et al., 2002).

Ogawa *et al.* (1990) relataram uma maior sensibilidade de microrganismos à destruição através do uso de alta pressão na presença de baixa concentração de solutos ou atividade de água mais elevada, portanto, a resistência dos microrganismos à pressão foi maior em teores mais elevados de sólidos solúveis (BASAK *et al.*, 2002). Desta forma, a matriz alimentícia a qual está inserido o micro-organismo avaliado é de fundamental importância já que os seus constituintes, como os carboidratos, podem exercer efeito protetor à inativação por APH (SMELT, 1998; ALPAS *et al.*, 2000; ROSENTHAL; MacKEY; BIRD, 2002; SAN MARTÍN; BARBOSA-CÀNOVAS; SWANSON, 2002; HUGAS; GARRIGA; MONFORT, 2002; BUTZ; TAUSHER, 2002). Menezes (2005) analisou o efeito da APH em polpa de açaí considerando pressão, tempo e temperatura e relatou que todos os parâmetros utilizados foram capazes de inativar a carga microbiana inicial de fungos, reduzindo-a a níveis não detectáveis.

No tratamento por APH o aumento de temperatura pode ser fator complementar importante para aumentar a eficiência na inativação microbiológica, no entanto, pode implicar em maior gasto energético (SHINAGAWA, 2009). A viabilidade econômica do processo de APH requer que as condições sejam otimizadas através de menores combinações de tempo, temperatura e pressão capazes de eliminar os microrganismos patogênicos e deteriorantes dos alimentos. É ideal não utilizar pressões superiores a 350 MPa, para garantir a redução do custo de operação, e, ainda, garantir o efeito mínimo da APH na qualidade sensorial do produto (DE HEIJ et al., 2003; BAYINDIRLI et al., 2006; JORDAN et al., 2001).

Diante dos resultados microbiológicos satisfatórios em todas as amostras do delineamento experimental optou-pela condição 300 MPa/25°C/5min, a mais branda dentre os tratamentos utilizados, como método alternativo à pasteurização convencional. Tal condição foi utilizada nos estudos subsequentes envolvendo análise sensorial.

# 5.1.1 Análise de vida útil (*Survival Analysis*)

Na Tabela 14 são apresentados os resultados das contagens de coliformes a 45°C e fungos filamentosos e leveduras, durante 35 dias de armazenamento do néctar de pitanga tratado por APH, a 300 MPa/25°C/5min e do controle sem pressurizar.

**Tabela 8.** Coliformes a 45°C e fungos filamentosos e leveduras em polpa de pitanga controle (não pressurizada) e tratada por APH (300 MPa/5min/25°C), armazenada sob temperatura de refrigeração (5±1°C).

Armazenamento	Coliformes	Coliformes à 45° (NMP/g)		Fungos filamentosos e			
(dias)			leveduras	s (UFC/g)			
	APH	Controle	APH	Controle			
Zero	<3	<3	<1,0 x 10 <sup>1</sup>	<1,0 x 10 <sup>1</sup>			
7	<3	<3	$<1,0 \times 10^{1}$	$<1,0 \times 10^{1}$			
14	<3	<3	$<1,0 \times 10^{1}$	$<1,0 \times 10^{1}$			
21	<3	<3	$<1,0 \times 10^{1}$	$<1,0 \times 10^{1}$			
28	<3	<3	$<1,0 \times 10^{1}$	$<1,0 \times 10^{1}$			
35	<3	<3	$<1,0 \times 10^{1}$	$<1,0 \times 10^{1}$			

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que não houve alteração dos valores entre as amostras controle e pressurizada durante todo o período de armazenamento, estando todas as amostras dentro dos padrões da legislação vigente (BRASIL, 2000; BRASIL, 2001). As análises microbiológicas revelaram baixa contagem destes microrganismos logo após processamento por APH (dia zero do armazenamento) o que já era esperado uma vez que a polpa (matéria-prima) já apresentava baixa contagem microbiana conforme mostrado na Tabela 7. Porém, não foi observado crescimento microbiano durante o armazenamento nem mesmo na polpa controle. Tal fato difere dos estudos anteriormente realizados em outras matrizes e elevam questionamentos para o ocorrido.

Marcellini (2006) aplicou 300 MPa/5 min./25°C à polpa de abacaxi e relatou que aos 28 dias de estudo a amostra controle apresentou aumento na população microbiana de aproximadamente 1 log a cada análise programada (de 7 em 7 dias), o que indicou que a conservação da polpa de abacaxi somente sobre refrigeração (5+1°C) não foi eficaz. Para as amostras pressurizadas, a carga de fungos filamentosos e leveduras manteve-se a níveis não detectáveis até os 14 dias de armazenamento, aos 21 e 28 dias de armazenamento as amostras apresentaram crescimento de fungos filamentosos e leveduras de forma a não atender o requerido pela legislação (BRASIL, 2000), estando inaptas para o consumo.

De acordo com San Martín, Barbosa-Cánovas & Swanson (2002) a vida útil de sucos de frutas não-tratados passou de 5 a 8 dias para aproximadamente três semanas quando pressurizados e mantidos estocados sob refrigeração.

Sanchez *et al.* (2004) avaliaram o efeito da alta pressão na vida útil de purê de tomate submetido a 700 MPa/1 min. e relataram mais de 90 dias sob refrigeração.

Na literatura, um grande número de investigações tem evidenciado a atividade antimicrobiana da pitanga sobre diversos microrganismos patogênicos. Tais estudos podem possivelmente explicar a diferença no crescimento de microrganismos nos estudos relatados com outras matrizes e não constatado no néctar de pitanga.

Em estudo realizado por Holetz *et al.* (2002) foi analisada a atividade antimicrobiana de 13 extratos de plantas sobre algumas espécies de bactérias e fungos,

entre eles o *Staphylococcus aureus*, a *Escherichia coli* e a *Candida albicans*. Tais microrganismos apresentaram-se sensíveis ao extrato das folhas da *Eugenia uniflora*. Verificou-se que a *Eugenia uniflora* L. possui atividade antimicrobiana relativamente ampla, devido ao fato de inibir o crescimento tanto de fungos como de bactérias.

A constatação da atividade antimicrobiana sobre bactérias foi também verificada em estudo realizado por Castro (2010). Ao avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* da *Eugenia uniflora* L. sobre bactérias formadoras do biofilme dental foram obtidos resultados satisfatórios para os extratos hidroalcoólicos produzidos a partir do fruto verde e maduro, bem como do infuso da folha fresca da pitanga.

Extratos das frutas da pitangueira também demonstraram ter alta atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Providencia spp.*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus spp.* coagulase, confirmando também a ausência de inibição de *Pseudomonas aeruginosa* (AURICCHIO, 2003). Alguns compostos do extrato de folha de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) têm sido mencionados como eficiente na ação inibitória para o vírus Epstein-Barr, alguns fungos (OLIVEIRA *et al.*, 2007). Segundo Bertucci *et al.* (2009), três espécies do gênero *Eugenia* apresentaram ação inibitória sobre linhagens de *S. aureus*, *Mycobacterium*, *Candida* e *Aspergillus*.

Pode-se concluir que, em termos microbiológicos, a APH foi eficaz na conservação durante os 35 dias de armazenamento nos quais o néctar foi avaliado, sob temperatura de refrigeração ( $5\pm1^{\circ}$ C). Estudos subsequentes devem ser realizados estendendo-se o tempo de armazenagem para investigar possíveis alterações.

# 5.2 Caracterização físico-química

A Tabela 9 apresenta os resultados das médias e desvio padrão (DP) referentes à caracterização físico-química da polpa de pitanga *in natura*.

<b>TO 1 1 0</b>	` ~	$\alpha$ · · · ·	1 1 1	•,	•
I ahala u	l aracterizacan	ticico_alli mica	da nolna de	nitanga	in natura
I abcia /	<b>).</b> Caracterização	nsico-dumina	ua boiba uc	Duanga	m nama.

Análises	<b>Médias</b> §	DP
Fibras (g/100g)	0,57	
Acidez em Ácido Cítrico (g/100g)	0,48	0,04
pH	3,54	0,02
Sólidos Solúveis (°Brix)	6,5	0,4

<sup>§</sup>média de três repetições.

De acordo com o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de pitanga, o pH máximo deve ser 3,4, teor de sólidos solúveis maior que 6 e acidez total mínima de 0,92, assim, a polpa usada neste trabalho não atingiu os requerimentos da legislação, referentes a acidez e ao pH. Estando, portanto em discordância com a legislação vigente.

O teor de sólidos solúveis e a acidez da polpa estão relacionados com o gosto doce e ácido, característico da fruta. No amadurecimento, geralmente ocorre uma diminuição da acidez e modificação da proporção entre os diversos ácidos encontrados nos frutos. O valor médio dos sólidos solúveis totais para a polpa integral ficou dentro da faixa reportada por Lederman *et al.* (1992), que foi entre 6,1 e 9,5° Brix, porém

inferior aos valores 7,00°; 9,33° e 12, 48 ° Brix determinados respectivamente nos estudos realizados por Oliveira *et al.* (2006), Salgado (1999) e Sikorski (2009).

O pH da polpa de pitanga foi similar ao descrito por Santos et. al (2002) em frutas de variedades provenientes de pomares da região da Paraíba. O valor médio de pH encontrado foi inferior a 4,5 o que permite classificar a polpa como ácida, característica que desfavorece o desenvolvimento de bactérias, a exceção daquelas ácido-tolerantes (EIROA, 1989). O resultado foi superior ao encontrado por Oliveira (2006) e Salgado (1999), respectivamente 3,05 e 2,89 para polpa de pitanga e bem próximo ao 3,74 relatado por Sikorski (2009).

Analisando a acidez da polpa observa-se valor bastante inferior ao determinado por Salgado *et al.* (1999) para polpa de pitanga (1,69 g/100g) e por Oliveira (2006) que encontrou 2,23 g/100g, mas próximo ao relatado por Sikorski (2009) (0,56 g/100g).

O teor de fibras foi bastante baixo comparando-se com o descrito na literatura. Salgado (1999) relatou 2,82 g/100g, enquanto Oliveira (2006) encontrou 2,34 g/100g. As variações do conteúdo de fibra dos frutos podem ser decorrentes de diversos fatores, como cultivar analisado, representatividade da amostra, condições de cultivo, método analítico, entre outros.

Diversos estudos empregando a tecnologia de APH em polpas e sucos de frutas demonstraram que esta tecnologia não afetou as características físico-químicas dos produtos. Tiburski (2009) observou que a alta pressão não provocou alterações nos parâmetros físico-químicos avaliados na polpa de cajá. Resultados semelhantes foram relatados por Pontes (2008) em suco de manga e por Wolbang et al. (2008) em melão submetido a APH. Bull et al. (2004), avaliaram tais parâmetros em suco de laranja e não observaram diferenças em relação ao suco in natura. Em estudo com sobremesas a base de morango, o pH, a acidez e o teor de sólidos solúveis do produto mantiveram-se inalterados após o processamento por APH, e durante três meses de armazenamento refrigerado (FONBERG-BROCZEK,1999). Marcellini (2006) relatou que amostras de polpa de abacaxi, in natura e processadas por APH, não diferiram significativamente para pH, Brix e acidez total em ácido cítrico (g/100g). Em estudo realizado com polpa de mamão foi observado que quanto maior a pressão empregada no processo, maior o pH do produto após o processamento. Entretanto, é importante salientar que tal resultado foi observado apenas quando a polpa foi submetida ao tratamento mais severo (500 MPa/15min.), não ocorrendo em pressões mais amenas. Já para os valores de solúveis totais não houve diferença (p>0,05) entre os tratamentos sólidos (SHINAGAWA, 2009).

Com base nos resultados acima citados estabeleceu-se que as análises físico-químicas (pH, sólidos solúveis, e acidez total titulável) não seriam efetuadas na polpa processada por APH.

### 5.2.1 Parâmetros de cor

Os resultados da análise dos parâmetros de cor realizadas nas amostras de polpa de pitanga controle (não pressurizada) e processadas por alta pressão hidrostática são mostrados na Tabela 10.

controle e processadas por ru ri, segundo o demeaniento experimentar dimizado.								
Tratamentos	$\mathbf{L}^*$	DP	a*	DP	<b>b</b> *	DP		
Controle	39,33e	±0,08	14,82c	±0,27	11,73e	±0,16		
300MPa/25°C/5 min	41,17c	$\pm 0,06$	16,16ab	$\pm 0,17$	14,12bcd	$\pm 0,14$		
300MPa/25°C/15 min	41,23bc	$\pm 0.07$	16,19ab	$\pm 0,11$	14,05bcd	$\pm 0,06$		
500MPa/25°C/5 min	41,04cd	$\pm 0,38$	15,99ab	$\pm 0,36$	13,99cd	$\pm 0,41$		
400MPa/25°C/15 min	41,47ab	$\pm 0,11$	15,80b	$\pm 0,09$	14,44abc	$\pm 0,17$		
300MPa/35°C/5 min	41,17c	$\pm 0,06$	16,16ab	$\pm 0,17$	14,12bcd	$\pm 0,14$		
300MPa/35°C/15 min	41,27bc	$\pm 0,12$	16,00ab	$\pm 0,09$	14,00bcd	$\pm 0,12$		
500MPa/35°C/5 min	41,69a	$\pm 0,04$	16,27a	$\pm 0.08$	14,47ab	$\pm 0.08$		
500MPa/35°C/15 min	41,70a	$\pm 0.08$	16,22ab	$\pm 0.04$	14,68a	$\pm 0,12$		
400MPa/30°C/10 min	40,89d	$\pm 0,24$	15,90ab	$\pm 0,15$	13,81d	$\pm 0,14$		
400MPa/30°C/10 min	41,06cd	$\pm 0,28$	16,04ab	$\pm 0,20$	13,98cd	$\pm 0,25$		
400MPa/30°C/10 min	41,25bc	$\pm 0,23$	15,98ab	$\pm 0,22$	14,12bcd	$\pm 0,21$		

**Tabela 10.** Médias<sup>§</sup> e desvio padrão (DP) dos parâmetros de cor de polpa de pitanga controle e processadas por APH, seguindo o delineamento experimental utilizado.

§ média de 4 repetições. Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05). L = luminosidade (0 = preto e 100 = branco) a = intensidade de verde/vermelho (-80 até zero = verde, do zero ao +100 = vermelho) b= intensidade de azul/amarelo (-100 até zero = azul, do zero ao +70 = amarelo)

A cor de um alimento deve-se à presença de pigmentos naturais. Estes pigmentos são instáveis, participam de diferentes reações e, em função disto, a alteração de cor é indicador das alterações químicas e bioquímicas possíveis de ocorrer durante o processamento e estocagem (RIBEIRO, 2007).

Tratamentos térmicos convencionais utilizados nas indústrias de sucos que usualmente empregam temperatura de 80-110°C podem originar componentes indesejáveis a partir da reação de Maillard ou caramelização. Diferentemente do que ocorre nestes tratamentos, a alta pressão favorece a retenção da cor. A alta pressão pode ser uma possível alternativa à manutenção da cor no produto processado como geleias, sucos e polpas de frutas, a qual vai depender da temperatura do processo e também do pH do produto (LUDIKHUYZE & HENDRICKX, 2001).

Os carotenóides podem ser decompostos por oxidação devido ao seu grande número de ligações duplas. Ao avaliar o impacto da alta pressão sobre os carotenóides em produtos de frutas e vegetais, Butz *et al.* (2003) concluíram não haver diferença significativa entre amostras pressurizadas (600MPa a 25 e 44°C, e 800MPa a 44°C por 6 minutos) e controles (não pressurizados), mostrando que os tratamentos não levaram à perda desses parâmetros. Resultado semelhante foi visto por Tiburski (2009), estudando o efeito do tratamento de alta pressão em polpa de cajá, onde pode-se perceber que em relação ao teor de carotenóides totais a amostra controle de polpa de cajá diferiu apenas do tratamento 4 (400MPa por15 min), que é o tratamento mais severo entre os testados.

As antocianinas são pigmentos flavonóides responsáveis pelas tonalidades vermelha a azul e são compostos relativamente estáveis à pressão. Vários estudos têm demonstrado a estabilidade da cor após o tratamento por alta pressão em frutas como laranja (POLYDERA et al., 2003); abacaxi (MARCELLINI, 2006); açaí (MENEZES, 2005).

Observa-se que para todos os parâmetros de cor analisados ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) houve uma diferença significativa entre o controle (polpa  $in\ natura$ ) e as amostras pressurizadas provenientes do delineamento experimental utilizado.

O parâmetro L\* é definido como luminosidade e caracteriza a cor como mais clara ou mais escura (de preto ao branco) em que o valor 0 significa preto e 100 branco.

Como este parâmetro teve um aumento com uso da alta pressão, ou seja, os valores ficaram mais próximos de 100, significando que a cor das amostras ficou mais clara. A amostra 9 (500MPa/35°C/15 min) apresentou o maior valor para L\* (41,70).

Analisando os resultados do parâmetro a\* (intensidade de verde/vermelho), a amostra 8 (500MPa/35°C/5 min) apresentou o maior valor (16,27) . Podemos observar que a alta pressão contribuiu para o aumento da intensidade de vermelho das polpas.

Em relação ao parâmetro b\* (azul – amarelo) a amostra 9 (500Mpa/35°C/15 min) apresentou o maior valor (14,68). Também neste parâmetro, todas as amostras diferiram estatisticamente em relação ao controle e podemos observar que a alta pressão intensificou, aumentando o parâmetro b\* ou seja, a cor amarela dos sucos.

Embora os resultados de diferença tenham sido significativos podemos sugerir que possivelmente o consumidor não observaria tais mudanças. Entretanto, se notado, o consumidor perceberia que na amostra pressurizada a coloração vermelha e amarela foram intensificadas, favorecendo, portando, os atributos de aparência.

Krebbers *et al.* (2003) também observaram um aumento na coloração vermelha (parâmetro a\*) do suco de tomate quando as amostras foram submetidas à pressão de 700MPa/1 min./80-90°C. Rodrigo *et al.* (2007) reportaram que não houve degradação da cor de tomates sob tratamento entre 300-700MPa/60min./ 65°C. Van Loey *et al.* (1998) observaram a descoloração do suco de brócolis após exposição à alta pressão combinada com temperaturas maiores que 50°C, acompanhada da degradação da clorofila. Porém, à temperatura de 25°C, pressões maiores que 800 MPa foram aplicadas sem observar efeito negativo na coloração do referido suco, demostrando, portanto, que a temperatura teve efeito sobre tais alterações. Contudo, vários outros resultados foram relatados na literatura quanto à preservação da coloração. Palou *et al.*, (2000), López-Malo *et al.* (1999), Palou *et al.* (1999) e Boyton *et al.* (2002) reportaram a preservação da coloração em amostras de guacamole, purês de abacate, purês de bananas e pedaços de mangas pressurizados, respectivamente.

## 5.2.2 Efeito da APH sobre a atividade antioxidante

Na Tabela 11 são apresentados as médias da atividade antioxidante determinadas pelo método ORAC na amostra controle e nas processadas seguindo o delineamento experimental utilizado.

**Tabela 11.** Média<sup>§</sup> e desvio padrão (DP) da atividade antioxidante (µmol Trolox/g) da polpa de pitanga controle e das amostras processadas por APH seguindo o delineamento experimental.

Condições do Processo	μmol Trolox/g	DP	% variação em relação ao controle
Controle	7,48ª	±0,33	
300 MPa/25°C/5 min	$7,52^{a}$	$\pm 0.06$	0,53%
300 MPa /25°C/15min	$7,52^{a}$	$\pm 0.06$	0,53%
500 MPa /25°C/5min	$7,09^{a}$	$\pm 0,17$	-5,21%
400 MPa/25°C/15 min	$7,09^{a}$	$\pm 0,17$	-5,21%
300 MPa/35°C/5 min	$7,65^{a}$	$\pm 1,23$	2,27%
300 MPa/35°C/15 min	$7,16^{a}$	$\pm 0,33$	-4,28%
500 MPa/35°C/5 min	$6,90^{a}$	$\pm 0,49$	-7,75%
500 MPa/35°C/15 min	7,21 <sup>a</sup>	$\pm 0,69$	-3,61%
400 MPa/30°C/10 min	$6,73^{a}$	$\pm 0,30$	-10,03%
400 MPa/30°C/10 min	$6,69^{a}$	$\pm 0,29$	-10,56%

400 MPa/30°C/10 min	$6,69^{a}$	±0,29	-10,56%

<sup>§</sup> média seguidas.

A atividade antioxidante das amostras variou entre 6,69 e 7,65 µmol Trolox/g, o que representou uma variação de -10,56 % e +2,27 % em relação ao controle (não pressurizado). Entretanto, tais diferenças não foram significativas (p>0,05). Consequentemente, é possível inferir que a alta pressão não afetou negativamente a atividade antioxidante da polpa de pitanga.

Celli (2011), pesquisando a atividade antioxidante de pitangas vermelhas e roxas pelo método de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) nos seguintes estádios de maturação verde 72,5 %, amarelo 35,1 %, laranja 32,9% e vermelho 35,5 %, observou que a atividade antioxidante de frutos verdes, para as variedades vermelha e roxa (17,18 e 18,13 mmoL de ET/100 g de fruto em peso seco, respectivamente), foram significativamente superiores (p=0,05) quando comparadas à atividade antioxidante encontrada para frutos nos demais estádios de desenvolvimento.

Pitangas de coloração roxa apresentam alta concentração de fenólicos totais quando comparadas a pitanga de coloração vermelha devido ao alto teor de antocianinas (Lima *et al.*, 2002). Os resultados demonstraram que pitanga é uma fonte rica de antocianinas, quando comparado com outros frutos, e que a capacidade antioxidante da pitanga roxa foi, em geral, mais elevada em comparação com as outras variedades. Os resultados mostraram ainda que a pitanga roxa cultivada no Rio Grande do Sul foi considerada fonte de compostos fenólicos, enquanto que os frutos de coloração laranja e vermelha foram ricos em carotenóides (BAGETTI, 2011).

Em estudos realizados para avaliação da atividade antioxidante pelo método ORAC em diversos frutos foram reportados: em abricó *in natura* 30,97 (Braga, 2010); para a acerola 1,26 a 85 mMol ET/kg de fruto (MEZADRI *et al*, 2008); para o muruci 11,8μMolET/g; em ubaia 32,3μMolET/g; e no ingá 17,5μMolET/g (Silva *et al*, 2007). Pompeu *et al.* (2008) relataram 5,9 a 9,0 mMolET/100g para os frutos de açaizeiro e Thaipong *et al.* (2006) de 18 e 26 μMolET/g de goiaba. Wu *et al.* (2004) encontraram em frutas consumidas nos Estados Unidos como, morango, pêssego, amora-preta e mirtilo, 35,77; 18,63; 53,48 e 62,2 μmol de TE/g, respectivamente.

### 5.3 Análise Sensorial

## 5.3.1 Determinação da diluição ideal e doçura ideal

Os 100 consumidores de suco de frutas recrutados para os testes de diluição e doçura ideais foram, em sua maioria, do sexo feminino, com idade entre 26 e 36 anos, com ensino superior completo e pós-graduação (Tabela 12). Os participantes também relataram seus hábitos em relação ao consumo de sucos de fruta (Anexo C). Quanto à frequência de consumo 28,7 % dos indivíduos bebem diariamente, 8,9 % esporadicamente, 1,0% raramente e a grande maioria 61,4% relatou consumir frequentemente.

Os consumidores do estudo foram questionados quanto ao consumo de suco de pitanga previamente a esse estudo e 42,6 % responderam nunca ter consumido, enquanto 57,4 % já haviam experimentado. Estes dados demonstram o potencial de expansão de mercado de produtos elaborados a partir de pitanga.

**Tabela 12.** Caracterização socioeconômica dos participantes do teste de doçura e diluição ideais.

Variáveis Demográficas	%				
Gênero					
Feminino	62,4				
Masculino	37,6				
Faixa Etária (anos)					
18 a 25	31,7				
26 a 35	34,7				
36 a 45	16,8				
46 a 55	10,9				
56 a 65	5,9				
Escolaridade					
Ensino Fundamental	2,0				
Ensino Médio incompleto	3,0				
Ensino Médio	5,9				
Ensino Superior	17,8				
Ensino Superior incompleto	30,7				
Pós-graduação	40,6				
Renda Mensal (salários mínimos)					
1 a 5	32				
6 a 10	22				
11 a 20	23				
21 a 30	19				
> 30	04				

A doçura "ideal" da polpa de pitanga para a formulação do néctar foi identificada através da utilização da escala relativa ao ideal, cujas respostas foram transformadas em dados numéricos. Substituindo-se o valor 5 (ideal) na variável y da equação da reta (Figura 10) obtida (y= 29,868x +2,0007), calculou-se a doçura "ideal" de polpa de pitanga, cujo valor foi de 10g de sacarose/100mL.

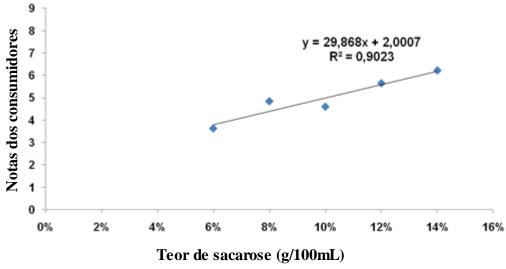


Figura 10. Determinação da doçura ideal para a formulação de néctar de pitanga.

Os resultados da determinação da diluição "ideal" para a formulação de néctar de pitanga são mostrados na Figura 11. Substituindo a variável y por 5 (ideal) na equação obtida: y=4,8261x + 3,2405, observa-se que 36 mL (36%) de polpa devem ser utilizados para elaboração do néctar, segundo os participantes do estudo.

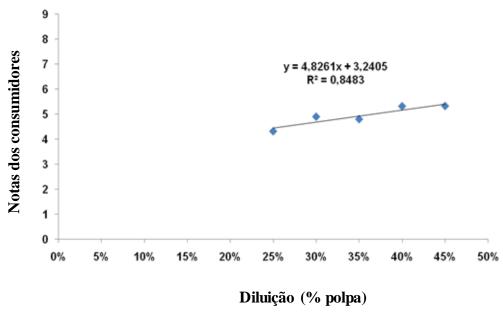


Figura 11. Determinação da diluição ideal para a formulação de néctar de pitanga.

A adição de 10g açúcar e 36mL de polpa de pitanga foi utilizada para a formulação do néctar de pitanga usado nos estudos sensoriais.

A doçura e diluição ideal para sucos e néctares variam de acordo com as características da fruta, ou seja, sua acidez, pH e sólidos solúveis e também conforme a população escolhida para o teste. De acordo com Medina (1987) os sucos concentrados e destinados à exportação quando adoçados, recebem a concentração de 10% de sacarose.

No estudo realizado por Tiburski (2009) a formulação de néctar de cajá, segundo participantes do estudo, deveria conter 33% de polpa em 100mL de água mineral e adoçado com 10,4g de sacarose/100mL. O teor de sólidos solúveis do néctar com doçura e diluição "ideais" foi de 15° Brix. Marcellini (2006) sugeriu 7,01g de sacarose e 56,5 % de polpa de abacaxi para a formulação de suco de abacaxi. Martins (2008) identificou 8% de sacarose para a doçura ideal de suco tropical de cupuaçu, Brito *et al.* (2007) 9,6% para o néctar de goiaba e para Teixeira (2011) os valores encontrados para formulação ideal em suco de jabuticaba foram 40% de polpa e a concentração de sacarose de 8,5%.

### 5.3.2 Teste de aceitação e *check all that apply* (CATA)

Para o teste de aceitação, dos 94 consumidores que participaram do estudo 50% foram mulheres e 50% homens na faixa etária entre 18 e 66 anos de idade.

As médias alcançadas para as seis amostras de néctares de pitanga, entre elas três néctares preparados a partir de marcas comerciais de polpas congeladas (A, B, C), uma de néctar preparado a partir da polpa *in natura* (Controle), um néctar preparado a partir de polpa Controle pasteurizada (Past.) e outra a partir da polpa submetida à APH (NAP) (300 MPa/5min/25°C) encontram-se na Tabela 13. A referida Tabela apresenta

também a porcentagem de notas superiores e inferiores a 5 (não gostei nem desgostei) e o percentual de indiferença dos consumidores.

**Tabela 13.** Médias de aceitação atribuídas às amostras de néctar de pitanga.

				0
Amostra	Média	% aprovação	% indiferença	% rejeição
Controle	5,8 <sup>a</sup>	64,89	12,77	22,34
APH	$6,0^{a}$	65,96	14,89	19,15
Controle pasteurizada (Past.)	$3,1^{d}$	11,70	11,70	76,60
Comercial A (Com. A)	4,1°	27,66	11,70	60,64
Comercial B (Com. B)	5,9 <sup>a</sup>	64,89	11,70	23,40
Comercial C (Com. C)	$5,0^{b}$	54,26	10,64	35,11

<sup>§</sup> avaliada em escalas hedônicas estruturadas variando de 1: desgostei extremamente a 9: gostei extremamente

Os resultados apresentados mostram que as amostras Controle, pressurizada (APH) e comercial B não diferiram (p>0,05) e foram as preferidas pelos participantes no estudo, alcançando médias significativamente superiores às demais.

Analisando a Tabela 12 em relação à porcentagem de aprovação e reprovação, observa-se que apenas as amostras Controle, APH, comercial B e C apresentaram mais de 50% de aprovação, isto é, notas superiores a 5. O índice de reprovação da amostra Controle pasteurizada foi de 76,60%, e de aprovação de apenas 11,70%. A referida amostra recebeu a maior rejeição pelos consumidores e também foi a amostra com menor média de aceitação, diferindo (p <0,05) entre todas as outras amostras, indicando que grande maioria não gostou da amostra.

Marcellini (2006) avaliando a aceitação de suco de abacaxi submetido à alta pressão relatou que as amostra do suco *in natura* e suco pressurizado foram as preferidas não havendo diferença significativa entre elas. Avaliando a aceitação de néctar de mamão, Campos (2004) avaliou a aceitabilidade de amostras pressurizada a 300 MPa em equipamento homogeneizador, pasteurizada (95°C/30s) e controle (congelada) e relatou que a amostra controle foi significativamente (p<0,05) preferida em relação às outras avaliadas (pressurizada e pasteurizada), as quais não diferiram (p<0,05) em relação à preferência.

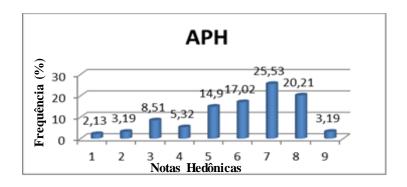
Na Figura 12 é possível observar a distribuição de frequência das notas hedônicas dadas pelos consumidores às amostras preferidas (comercial B e APH) e a amostra menos preferida (Controle pasteurizada). Embora as amostras preferidas tenham alcançado a mesma média, a amostra APH recebeu no total, maior percentual de notas 7, 8 e 9. Observa-se também que a amostra Controle pasteurizada apresentou maior porcentagem de notas 1, 2, 3 e 4 que correspondem a região de rejeição do produto, resultado, portanto, traduzido no maior percentual de rejeição.

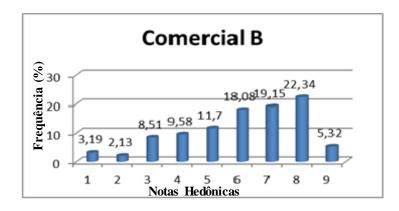
Médias com letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \le 0.05$ ).

<sup>%</sup> aprovação- porcentagem de notas de 6 a 9

<sup>%</sup> indiferença- porcentagem de notas 5

<sup>%</sup> rejeição- porcentagem de notas de 1 a 4







**Figura 12.** Distribuição de frequência das notas hedônicas dos consumidores para as amostras preferidas (Comercial B e APH) e menos preferida (Controle pasteurizada).

Para o teste *Check-all-that-apply* (CATA) foi solicitado aos provadores que assinalassem entre os 20 termos relacionados à amostra de néctar de pitanga, todos aqueles relativos à aparência, aroma, textura e sabor que descrevessem o produto. A Tabela 14 mostra a frequência em que cada um dos termos do questionário CATA foi utilizado para a descrição das seis amostras de néctares de pitanga. Os mais frequentes foram cor avermelhada, sabor de pitanga, presença de partículas, cor atrativa, ácido, sabor adstringente, sabor estranho, gosto doce, gosto amargo, aspecto arenoso. Tais termos podem ser, portanto, considerados os mais apropriados na descrição das amostras pelos consumidores. Aqueles menos usados foram aroma característico de pitanga, aroma estranho, ralo, aroma bom, sem açúcar, concentrado, aroma cítrico, delicioso, sabor de passado, sem sabor.

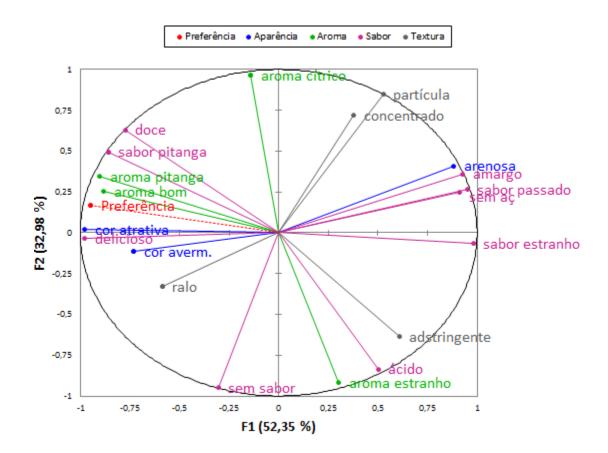
**Tabela 14.** Frequência em que cada um dos termos do questionário CATA foi marcado para a descrição do produto.

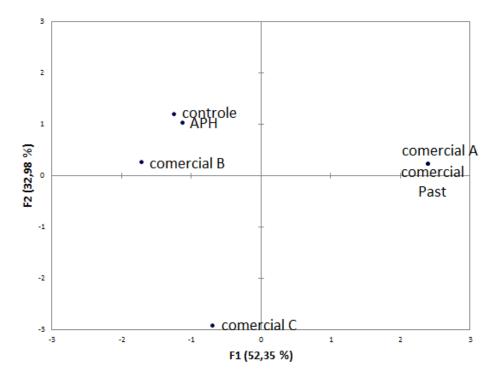
	Controle	АРН	Past	Com. A	Com. B	Com. C
Cor avermelhada	61	62	12	43	58	24
Aparência arenosa	25	33	50	17	13	13
Cor atrativa	41	43	5	33	35	37
Aroma cítrico	16	14	12	17	3	15
Aroma característico de pitanga	31	25	11	16	18	25
Aroma estranho	9	5	24	19	55	3
Aroma bom	23	20	10	6	16	17
Sabor característico de pitanga	56	47	17	30	24	48
Sem açúcar	7	11	27	21	6	13
Sabor estranho	21	12	52	40	25	13
Delicioso	14	13	3	3	13	19
Ácido	16	18	38	26	56	13
Doce	48	48	5	11	3	47
Amargo	21	15	59	58	0	9
Sabor de passado	10	5	24	17	3	3
Sem sabor	1	4	1	2	33	7
Ralo	10	17	11	8	26	42
Adstringente	25	19	33	37	39	13
Concentrado	18	17	15	29	0	0
Presença de partículas	50	50	62	19	0	36

(Controle) amostra *in natura*; (APH) amostra com processamento por alta pressão hidrostática; (Past) polpa Controle pasteurizada; (Com.A) marca comercial A; (Com.B) marca comercial B; (Com.C) marca comercial C.

A Figura 13 mostra os dados do CATA após analisados por Análise Múltipla de Fatores (AMF). A AMF foi realizada considerando as notas da preferência como

variável suplementar. As duas primeiras dimensões explicaram 85,33% da variância dos dados experimentais, com 52,35% e 32,98% para a primeira e segunda dimensões, respectivamente. A primeira dimensão foi correlacionada positivamente com os termos aparência arenosa, sabor estranho, sem açúcar e amargo. Por outro lado, a segunda dimensão foi correlacionada positivamente com os termos aroma cítrico e presença de partículas e negativamente com os termos aroma estranho, ácido e sem sabor. Observase que as amostras comercial A e Controle pasteurizada foram caraterizadas pelos mesmos atributos, ficaram muito próximas na descrição pelo consumidor, revelando, portanto que são sensorialmente parecidas. Os atributos utilizados para descrever tais amostras foram arenosa, amarga, sabor passado, sem açúcar e com menos frequência pelos atributos concentrado e presenca de partículas. A amostra comercial C diferiu na descrição dos atributos em relação às demais amostras e foi basicamente assinalada pelo atributo sem sabor, ralo e cor avermelhada. As amostras Controle, comercial B e APH foram caracterizadas com mesmos atributos (Figura 13), estando no mesmo quadrante e sendo caracterizadas pelos atributos aroma cítrico, doce, sabor de pitanga, aroma de pitanga, aroma bom, cor atrativa.





**Figura 13.** Descrição sensorial das amostras obtidas pelo CATA e por análise múltipla de fatores (AMF).

Ainda que na literatura existam diversos estudos que utilizam o CATA como ferramenta na descrição de produtos incluindo sorvete (DOOLEY; LEE; MEULLENET, 2010), sobremesa láctea de chocolate (ARES *et al.*, 2010), cultivares de morango (LADO *et al.*, 2010), vinho (PUYARES; ARES; CARRAU, 2010), sobremesa láctea (BRUZZONE; ARES; GIMENEZ, 2012), bebida em pó sabor laranja (ARES *et al.*, 2011), maçãs (SYMONEAUX; GALMARINI; MEHINAGIC, 2012) e tomate cereja (ROCHA *et al.*, 2013), nada foi realizado com sucos naturais e ainda empregando o processamento por alta pressão hidrostática, impossibilitando a comparação com o presente trabalho.

### 5.3.3 Análise de vida útil (Survival Analysis)

Além das análises microbiológicas realizadas, a análise de sobrevivência (Survival Analysis) foi empregada a fim de estimar a vida útil do néctar de pitanga, sob o ponto de vista do consumidor. Para tal, foram utilizados os dados obtidos dos consumidores quando questionados se eles consumiriam as amostras com tempos de armazenamento diferentes.

Na metodologia *Survival Analysis* os próprios consumidores estabelecem a vida de prateleira dos alimentos, respondendo ao comportamento diário de aceitação ou rejeição do produto armazenado. Além disto, o trabalho experimental é relativamente simples e de baixo custo. Um número razoável de consumidores é suficiente para estimar vida útil com intervalos de confiança razoáveis.

Para estimar o período de vida útil, a probabilidade de um consumidor rejeitar o produto tem de ser escolhido. Primeiramente deve-se deliberar o percentual de rejeição que o estudo está disposto a tolerar. Alguns autores definem em 25 % como o máximo de rejeição para classificar a amostra como rejeitada. Usualmente, recomenda-se uma rejeição de 25% ou 50%, dependendo do produto analisado. Gacula e Singh (1984) referiram um valor de período de vida útil nominal considerando rejeição de 50%,

enquanto Curia, Aguerrido, Langohr e Hough (2005) estimaram vida a útil de iogurte considerando os percentis 25% e 50%.

No presente estudo a vida de prateleira, foi calculada para tolerância de rejeição de 25%.

Em estudo produzido por Calle (2006) para estimar a vida útil de iogurte integral sabor morango (2,7% de gordura) e sem gordura (0,05% de gordura) armazenados por 0, 14, 28 42, 56, 70 e 84 dias, e considerando a rejeição do consumidor de 25 %, identificaram em 41 dias e 36 dias, respectivamente.

Em estudo semelhante realizado na Espanha, utilizando novamente como matriz o iogurte, Salvador (2005) obteve para um nível de rejeição de 25% um tempo de vida útil entre 38 dias (sem gordura) e 69 dias (integral). Na Espanha, a vida útil legalmente estabelecida é de 28 dias para iogurtes. De um ponto de vista sensorial, no entanto, isso parece muito curto, visto que consumidores aceitaram as amostras por mais tempo.

No presente estudo com néctar de pitanga, as amostras foram mantidas sobrefrigeração à ±5 °C, nos tempos de armazenamento zero, 7, 14, 21, 28 e 35 dias. A metodologia de análise de sobrevivência (*Survival Analysis*) utilizada para estimar a vida útil sensorial mostrou que aos 35 dias de armazenamento a rejeição do néctar foi de aproximadamente 22 %, não alcançando o máximo de 25 % estabelecido pelo método. Portanto, aos 35 dias o néctar ainda estava sensorialmente aceito para consumo pelos participantes. Neste caso, definiu-se que a rejeição da amostra foi "right-censored", ou seja, o consumidor aceitou sensorialmente todas as amostras (HOUGH, 2003). Podemos, portanto, concluir que o tempo de negação ou rejeição do néctar de pitanga pressurizada a 300MPa/5 minutos/25° C é maior que 35 dias.

Resultados semelhantes com rejeição da amostra "right-censored" foram encontrados no estudo realizado por Salvador (2005). A rejeição do produto pelo consumidor tolerando-se um percentual de 50%, não chegou ao máximo analisado (91 dias). Isto significa que para grande parte dos consumidores o tempo da rejeição foi maior do que 91 dias.

Podemos concluir assim, como nos critérios microbiológicos citados anteriormente e fundamentados sensorialmente, o período de armazenamento para o néctar de pitanga pressurizado foi também superior a 35 dias e que, portanto, novos estudos devem ser realizados, com tempo de estocagem mais longos, a fim de se estabelecer a vida útil sensorial do produto.

# 6 CONCLUSÕES

- O processamento a APH da polpa de pitanga por 300 MPa/5 min./25°C demonstrou ser eficaz para a produção de polpa com vida útil de 35 dias.
- A alta pressão não afetou negativamente a atividade antioxidante da polpa de pitanga.
- A identificação da doçura e concentração "ideais" para a formulação do néctar de pitanga permitiu preparar o néctar formulado com adequada aceitação dos consumidores.
- Os resultados apresentados demonstraram que as amostras foram bem caracterizadas em termos das propriedades sensoriais, sugerindo que os consumidores foram capazes de perceber diferenças entre as amostras estudadas, confirmando o método CATA como ferramenta adequada para descrever atributos sensoriais e hedônicos do produto.
- A partir da estimativa de vida útil sensorial (pela Survival Analysis) o período de armazenamento para o néctar de pitanga pressurizado foi maior que 35 dias sugerindo que novos estudos devem ser realizados, com tempo de estocagem mais longo, a fim de se estabelecer o tempo de vida útil sensorial do produto.

# 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, D. J.; FARIA, M. V.; SILVA, P. R. Biologia experimental em Pitangueira: uma revisão de cinco décadas de publicações científicas. **Ambiência revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, Paraná, v.8, n.1, jan./abr. 2012.
- ALPAS, H.; BOZOGLU, F. Efficiency of high pressure treatment for destruction of *Listeria monocytogenes* in fruit juice. **Immunology and Medical Microbiology**, v.35, p.269-273, 2003.
- ALVES, R. M. V.; BORDIN, M. R.; GARCIA, E. E. C. Aplicação de um modelo matemático na estimativa da vida-de-prateleira de biscoitos "cream cracker". **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 89-101, jan./jun. 1996.
- ALVES, C.K; DAVID, J.M; DAVID, J.P; BAHIA, M.V;. AGUIAR, R.M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Revista Química Nova**, v. 33, n. 1, 2010.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4 ed. Washington: APHA, 2001. 676 p.
- ANDRADE-WARTHA, E.R.S. Propriedades antioxidantes de clones do pedúnculo de caju (anacardium occidentale L.): efeito sobre a lipoperoxidação de enzimas participantes do sistema antioxidante de defesa do organismo animal. 2007.111f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.
- ANTOLOVICH, M.; PATSALIDES, E.; McDONALD, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidante activity. **The Analyst**, London, v.127, p.183-198, 2002.
- ARAÚJO, J. M. **Química de alimentos: teoria e prática**, 3° ed, Viçosa: editora UFV, 2004.
- ARES, G.; VARELA, P.; RADO, G.; GIMÉNEZ, A. Are consumer profiling techniques equivalent for some product categories? The case of orange-flavored powdered drinks. **International Journal of Food Science and Technology**, v.46, n.8, p.1600-1608, 2011.
- ARES, G.; JAEGER, S. R. Check-all-that-apply questions: Influence of attribute order on sensory product characterization. **Food Quality and Preference**, v.28, p.141–153, 2013.

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12806: Análise sensorial dos alimentos e bebidas**. Rio de Janeiro: ABNT, fev. 1993. 8 p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the analytical chemists.** 18 ed. Mayland: AOAC, 2010.
- AURICCHIO, M. T. **Estudo Farmacognóstico de folhas de** *Eugenia uniflora* **L.** 2001. 128f. Dissertação (Mestrado em Fármacos e Medicamentos)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.
- AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. M. Folhas de Eugenia uniflora L. (pitanga): Revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, n.1, p. 55–61, 2003.
- AVEDANO, F.P. Aplicação da avaliação sensorial na indústria de alimentos. 2007.76f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.
- AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, n. 3-4, p. 385-396, 2004.
- BAGETTI, M.; FACCO, E.M.P.; PICCOLO, J.; HIRSCH,G.E.; RODRIGUEZ-AMAYA,D.; KOBORI,C.N.; VIZZOTTO,M.; EMANUELLI,T. Caracterização físico-química e capacidade antioxidante de pitangas (*Eugenia uniflora* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.31, n.1, p.147-154, jan./mar. 2011.
- BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., RODRÍGUEZ, J.J. Update on nontheral food processing technologies, irradiation and ultrasound. **Food Australia**, Australia, v.54 n.11, p.513-520, 2002.
- BASAK, S.; RAMASWAMY, H.S.; PIETTE J.P.G. High pressure destruction kinetics of Leuconostoc mesenteroides and Saccharomyces cerevisiae in single strength and concentrated orange juice. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 3, n.3, p. 223-231, set. 2002.
- BELITZ, H.D; GROSCH, W. **Química de los Alimentos**. Zargagoza, Espanha: Ed. Acribia S. A., 1988. 813p.
- BERTUCCI A, O. C.; SILVA, P.A.; RAMOS, D.; CERDEIRAS, M.P.; VAZQUEZ, A. Initial antimicrobial activity studies of plants of the riverside forests of the southern Uruguay River. **Braz J Pharmacogn**, v.19, p. 20-5, 2009.
- BEUCHAT, L.R., COUSIN, M.A. Yeasts and molds. In: FRANCES, D. P.; ITO, K. (Org.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Washington, DC: APHA, 2001. p. 209-215.
- BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; SILVA JÚNIOR, J. F. da.; ALVES, M. A. Comportamento da Pitangueira (*Eugenia uniflora*) sob Irrigação na Região do Vale do

- Rio Moxotó, Pernambuco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.1, p.177-179, 2004.
- BEZERRA, J. E. F.; SILVA JR., J. F. da; LEDERMAN, I. E. **Pitanga** "Eugenia uniflora L". Jaboticabal: Funep, 2000. 30 p. (Série Frutas Nativas, 1).
- BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.12, p.123-130, maio/ago. 1999.
- BOTELHO, R. **Pitanga é rica em vitaminas.** Disponível em: <a href="http://www1.folha.uol.com.br/folha/comida/ult10005u343064.shtml">http://www1.folha.uol.com.br/folha/comida/ult10005u343064.shtml</a>>. Acesso em: 19 dezembro. 2012.
- BOYTON, B. B.; SIMS, C. A.; SARGENT, S.; BALABAN, M. O.; MARSHALL, M. R. Quality and Stability of Precut Mangos and Carambolas Subjected to High-Pressure Processing. **Journal of Food Science**, Chicago, v.67, n.1, p.409-415, 2002.
- BRAGA, A.C.C.; SILVA, A.E.; PELAIS, A.C.E.; BICHARA, C.M.G.; POMPEU,D.R. Atividade antioxidante e quantificação de compostos bioativos dos frutos de abricó (*mammea americana*). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara v.21, n.1, p. 31-36, jan./mar. 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 12, de 04 de setembro de 2003. **Aprova o "Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade gerais para suco tropical"**. Disponível em: <a href="http://www.agricultura.gov.br">http://www.agricultura.gov.br</a>. Acesso em: 06 maio. 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 01, de 07 de janeiro de 2000. **"Aprova os Regulamentos Técnicos para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpas e sucos de frutas."**. Disponível em: <a href="http://www.agricultura.gov.br">http://www.agricultura.gov.br</a>>. Acesso em: 06 maio. 2012.
- BRASIL. Resolução RDC N°12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o "Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos". Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 06 de jul. 2011.
- BRUNINI, M.A; DURIGAN,J,F; OLIVEIRA, A.L. Avaliação das alterações em polpa de manga 'tommy-atkins' congeladas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, n.3, p.651-653, 2002.
- BRUZZONE, F.; ARES, G.; GIMÉNEZ, A. Consumers texture perception of milk desserts, comparison with trained assessors data. **Journal of Texture Studies**, v.43, p.214–226. 2011.
- 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, p.135-149, 2004.

- BUTZ, P.; FERNÁNDEZ GARCÍA, A.; LINDAUER, R.; DIETERICH, S.; BOGNÁR, A.; TAUSCHER, B. Influence of ultra-high pressure processing on fruit and vegetable products. **Journal of Food Engineering**, v.56, n.2-3, p.233–236, 2003.
- BUTZ, P., TAUSCHER, B. Emerging Technologies: chemical aspects. **Food Research International**, v. 35, 279-284, 2002.
- CALDERÓN-MIRANDA, M.L.; GONZÁLEZ, M.F.S.M.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; SWANSON, B.G. Métodos no térmicos para procesamiento de alimentos: variables e inactivación microbiana. **Brazilian Journal of Food and Technology**, Campinas, v.1, n.1-2, p.3-11, 1998.
- CALLE, L.A.; HOUGH,B.G.; CURIA, A.B.; GOMEZ,G. Bayesian survival analysis modeling applied to sensory shelf life of foods. **Food Quality and Preference**, v.17, p.307-312, 2006.
- CAMPOS, F. P. Estudo do processamento de suco de laranja através da tecnologia de homogeneização a ultra alta pressão. 2004. 94p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.
- CAMPOS, F. P.; DOSUALDO, G. L.; CRISTIANINI, M. Utilização da tecnologia de alta pressão no processamento de alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.6, n.2, p.351-357, 2003.
- CANO, M. P.; HERNANDEZ, A.; ANCOS, B de. High Pressure and Temperature Effects on Enzyme Inactivation in Strawberry and Orange Products. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 1, P. 85-88, 1997.
- CARNEIRO, J.D.S.; MINIM, V.P.R. Testes de preferência. In: MINIM, V.P.R. **Analise Sensorial: Estudos com Consumidores**. Viçosa: UFV, 2006. p.51-65.
- CARRIZO, A. Proposta para integrar os sistemas de gestão da qualidade, das boas práticas de fabricação e da APPCC em uma pequena empresa de sucos de frutas. 2005. 114f. Dissertação (Mestrado Ciências Exatas e Tecnologia)- Programa de Pósgraduação em Engenharia de Produção, Universidade Federal de São Carlos, são Carlos, São Paulo, 2005.
- CASTRO, E. R.; GALETTI, M. Frugivory and seed dispersal by the tegu lizard Tupinambis merianae Reptilia: Teiida. **Papéis Avulsos de Zoologia**, São Paulo v.44, n.6, 2004.
- CASTRO, R.D.; FREIRES, I.A.; FERREIRA D.A.H.; JOVITO, V.C.; PAULO, M.Q. Atividade antibacteriana *in vitro* de produtos naturais sobre *Lactobacillus casei*. **International Journal of Dentistry,** v.9, n.2, p.74-77, abr./jun. 2010.
- CELLI, G.B. Comportamento fisiológico e bioquímico de frutos da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.): características de interesse para o consumo humano. 2011.149f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal Do Paraná, Curitiba. 2011.

- CHEFTEL, J.C. Review: high pressure, microbial inactivation and food preservation. **Food Science and Technology**, v.1, p.75-90, 1995.
- CORRÊA NETO, R.S; FARIA, J.A.F. Fatores que influem na qualidade do suco de laranja. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, v.19 n.1, jan./abr. 1999.
- CURIA, A., AGUERRIDO, M., LANGOHR, K., HOUGH, G. Survival Analysis Applied to Sensory Shelf Life of Yogurts I: Argentine Formulations. **Journal of Food Science**, v.70, n.7, 2005.
- DALAI, S.N.; SAH, J.K. High Hydrostatic Pressure (HPP) in Food Processing: Design Aspects and Applications. **Assam University Journal of Science & Technology**. v.6, n.70-87, 2010.
- DANTAS, M. I. S.; MINIM, V. P. R.; PUSCHMANN, R.; CARNEIRO, J. D. S.; BARBOSA, R. L. Mapa de preferência de couve minimamente processada. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v.22, n.1, jan./mar. 2004.
- De ANCOS,B; SGROPPO,S; PLAZA,L; CANO, M.P. Possible nutritional and health-related value promotion in orange juice preserved by high-pressure treatment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.82, n.8, p.790-796, 2002.
- DELIZA, R. The use of "ideal point" scale to determine the best sugar and dilution levels of passion fruit juice by consumers. **Alimentaria**, v.38, n. 24, p.109-113, 2001.
- DELIZA, R; ROSENTHAL, A; ABADIA,F.B.D; SILVA,C.H.O & CASTILHO, C. Application of high pressure technology in the fruit juice processing: benefits perceived by consumers. **Journal of Food Engineering**, v.67, p.241-246, 2005.
- DOOLEY, L.; LEE, Y. S.; MEULLENET, J. F. The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. **Food Quality and Preference**, Barking, v. 21, p. 394-401, 2010.
- DONSÍ, G.; FERRARI, G.; DI MATTEO, M. High Pressure Stabilization of Orange Juice: Evaluation of the effects of process conditions. **Italian Food & Beverage Technology**, v.3, p.10-14, 1996.
- EIROA, M.N.V. Microrganismos deteriorantes de suco de frutas e medidas de controle. **Boletim SBCTA**, Campinas, v.23, n.314, p.141-160, 1989.
- FARKAS, D. F., HOOVER, D. G. High Pressure Processing. **Journal of Food Science**, Chicago, v.65, n.4, p.47-64, 2000.
- FELLOWS, P.J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2 ed. Porto Alegre: ArtMed, 2006.
- FERREIRA, J.E.M. Estabilidade de carotenóides, flavonóides e vitamina C em alimentos submetidos às tecnologias emergentes de processamento. 2011. 180f.

- Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2011.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Yeast, Molds and Mycotoxins. In: FDA. **Bacteriological Analytical Manual On Line**, Ed. 8, 2001. cap. 18. Disponível em: www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-18html. Acesso em: 11 março. 2013.
- FONBERG-BROCZEK, M.; ARABAS, J.; KOSTRZEWA, E.; REPS, A.; SZCZAWIÑSKI, J.; SZCZEPEK, J.; WINDYGA, B.; POROWSKI, S. High-pressure treatment of fruit, meat, and cheese products equipment, methods and results. In: OLIVEIRA, F. A. R.; OLIVEIRA, J. C. (Org.). **Processing foods quality optimization and process assessment**. Boca RAton: CRC Press, 1999. Cap 16.
- FRANKEL, E. N., MEYER, A. S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal Science Food Agriculture**. v.80, p.1925-1941, 2000.
- FRANZON, R.C.; GONÇALVES, R.S.; ANTUNES, L.E.C.; RASEIRA, M.C.B; TREVISAN, R. Propagação da pitangueira através da enxertia de garfagem. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.2, p.488-491, 2008.
- FREITAS, C.A.S; MAIA,G.A; COSTA, J.M.C; FIGUEIREDO, R.W; RODRIGUES, M.C.P; SOUSA, P.H.M. Estabilidade do suco tropical de acerola (*malpighia emarginata D.C*) adoçado envasado pelos processos hot-fill e asséptico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.3, p.544-549, 2006.
- FURLANETTO, S.; PAULA, CR.; GAMBALE, W.; NASCIMENTO, D. Ocorrências de bolores e leveduras em sucos de laranja ao natural. **Revista Brasileira de Microbiologia**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 31-34, 1982.
- GACULA, M.C.; SINGH, J. Statistical Methods in Food and Consumer Research. Academic Press, New York, 1984.
- GARRIGA, M.; GRÈBOL, N.; AYMERICH, MT.; MONFORT, JM.; HUGAS, M. Microbial inactivation after high-pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.5, n.4, p.451–457, 2002.
- GOLDMAN, G.H.; FERREIRA, M.E.S.; MARQUES, E.R.; SAVOLDI, M.; PERLIN, D.; PARK, S.; MARTINEZ, P.C.G.; GOLDMAN, M.H.S.; COLOMBO, A.L. Evaluation of fluconazole resistance mechanisms in *Candida albicans* clinical isolates from HIV-infected patients in Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious. Disease**, v. 50, n. 1, p. 25-32, 2004.
- GOMES, M.R.A.; LEDWARD, D.A. Effect of high-pressure treatment on the activity of some polyphenoloxidases. **Food Chemistry**, v. 56, n.1, p.01-05, 1996.
- GOODNER, J.K.; BRADDOK, R.J.; PARISH. M.E.; SIMS, C.A. Cloud stabilization of orange juice by high pressure processing. **Journal of Food Science**, v.64, n.699-700, 1999.

- GRANADA, G.G.; ZAMBIAZI, R.C.; MENDONÇA, C.R.B. abacaxi: produção, mercado e subprodutos. **Boletim do Centro de Pesquisa de processamento de Alimentos**, Curitiba, v.22, n.2, p. 405-422, 2004.
- GRANT, S., PATTERSON, M., LEDWARD, D. Food processing gets freshly squeezed. **Chemistry & Industry**, London, n.2, p. 55-58, 2000.
- GREENHOFF, K.; MacFIE, H. J. L. Preference mapping in pratice. In: MacFIE, H. J. H.; THOMSON, D. M. H. **Measurements of Food Preferences.** London: Blackie Academic & Professional, 1994. p.137-166.
- GUERRERO, L. Estudios de consumidores: analises de los errores mas habituales. In: ALMEIDA, T. C. A.; DAMASIO, M. H.; SILVA, M. A. A. P. (Eds). **Avanços em Analise Sensorial**. São Paulo: Varela Editora e Livraria LTDA, 1999. p. 121-129.
- HENDRICKX, M.; L. LUDIKHUYZE; BROECK, I. V. D.; WEEMAES, C. Effects of high pressure on enzymes related to food quality. **Trends in Food Science & Technology**, v.9, p.197-203, 1998.
- HOFFMANN-RIBANI, R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Otimização de método para determinação de flavonóis e flavonas em frutas por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando delineamento estatístico e análise de superfície de resposta. **Química Nova**, v.31, n.6, p.1378-1384, 2008.
- HOLETZ, F.B.; PESSINI, G.L.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; NAKAMURA, C.V.; DIAS,B.P. Screening of plants used in the brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz,** v.97, p 1027-1031, 2002.
- HOOVER, D.G.; METRICK, C.; PAPINEAU, A.M.; KNORR, DBiological Effects of High Hydrostatic Pressure on Food Microorganisms. **Food Technology**, v.43, n.3, p.99-107, 1989.
- HOUGH, G.; LANGOHR, K.; GÓMEZ, G.; CURIA, A. Survival Analysis Applied to Sensory Shelf Life of Foods. **Journal of food Science**. v.68, n.1, p.359-362, 2003.
- HOUGH, G. Sensory Shelf Life Estimation of Food Products. Boca Raton, Florida, **EEUU: Taylor & Francis Group**, 2010.
- INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS. Sensory evaluation division: guidelines for the preparation and review of paper reporting sensory evaluation date. **Food Technology**, v. 35, n. 4, p. 16-17, 1981.
- JACQUES, A. C.; PERTUZZATI, P. B.; ZAMBIAZI, R. **Teor de carotenóides em pequenas frutas.** Disponível em:
- <a href="http://www.ufpel.tche.br/cic/2007/cd/pdf/CA/CA\_00226.pdf">http://www.ufpel.tche.br/cic/2007/cd/pdf/CA/CA\_00226.pdf</a>. Acesso em: 19 dezembro. Ano 2012.

- JAEGER, S. R.; CARDELLO, A. V. Direct and indirect hedonic scaling methods: A comparison of the labeled affective magnitude (LAM) scale and best-worst scaling. **Food Quality and Preference**, v.20, n.3, p.249-258, 2009.
- JORDAN, S.L.; PASCUAL, C.; BRACEY, E.; MACKEY, B.M. Inactivation and injury of pressure-resistant strains of *Escherichia coli* O157 and *Listeria monocytogenes* in fruit juice. **Journal of Applied Microbiology**, v.91, n.3, p.463-469, 2001.
- KALCHAYANAND, N.; SIKES, A.; DUNNE, C.P.; RAY, B. Factors influencing death and injury of foodborne pathogens by hydrostatic pressure-pasteurization. **Food Microbiology**, v.15, n.2, p.207-214, 1998.
- KORNACKI, J. L.; JOHNSON, J. L. Enterobacteriaceae, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: FRANCES, D. P.; ITO, K. (Org.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 2001, Washington, DC: APHA, 2001. p. 69-80.
- KREBBERS, B.; MATSER, A. M.; HOOGERWERF, S. W.; MOEZELAAR, R., TOMASSEN, M. & VAN DEN BERG, R. W. Combined high pressure and thermal treatments for processing of tomato puree: Evaluation of microbial inactivation and quality parameters. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, n.4, p.377–385, 2003.
- KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; MORALES, M.T.; FETT, R. Frutos Tropicais silvestres e polpas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v.36, n.4, p.1283-1287, 2006.
- LADO, J.; VICENTE, E.; MANZZIONI, A.; ARES, G. Application of a check-all-that-apply question for the evaluation of strawberry cultivars from a breeding program. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n.13, p.2268–2275, 2010.
- LAUGERETTE, F; GAILLARD, D; PASSILLY-DEGRCE, P; NIOT, L; BESNARD, P. Do we taste fat? **Biochimie**, v.89, n.2, p. 265-269, 2007.
- LEDERMAN, I. E.; BEZERRA, J. E. F.; CALADO, G. A pitangueira em Pernambuco. Recife: Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária IPA, 1992. 20p.
- LEOPOLD, J. **Natural Tropical Botanical Garden**. Disponível em: <a href="http://ntbg.org/plants/plant\_details.php?plantid=5067">http://ntbg.org/plants/plant\_details.php?plantid=5067</a> >. Acesso em: 26/001/2013.
- LIMA, V. L. A. G. de; MÉLO, E. A.; LIMA, D. E. S. Fenólicos e carotenoides totais em pitanga. **Scientia Agricola**, São Paulo, v.59, n.3, p.447-450, 2002.
- LOPES, A.S.; MATTIETTO, R.A.; MENEZES, H.C. Estabilidade da polpa de pitanga sob congelamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.3, p.553-559, jul./set. 2005.

- LÓPEZ- CABALLERO, M.E.; CARBALLO, J.; SOLAS, M.T.; JIMÉNEZCOLMENERO, F. Responses of Pseudomonas fluorescens to combined high pressure/temperature treatments. **European Food Research Technology**, v.214, n.6, p.511-515, 2002.
- LÓPEZ-MALO, A.; PALOU, E.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; WELTI-CHANES, J.& SWANSON, B. G. Polyphenoloxidase activity and color changes during storage of high hydrostatic pressure treated avocado puree. **Food Research International**, v.31, n.8, p.549-556, 1999.
- LUDIKHUYZE, L. & HENDRICKX, M. E. Effects of high pressure on chemical reactions related to food quality. In M. E. Hendrickx, & D. Knorr (Eds.), Ultra high pressure treatment of food, Chapter 6 (pp. 17–185). London, UK: Kluwer, 2001.
- MacFIE, H. Preference mapping and food product development. In: MacFIE, H. (Ed.) Consumer-led food product development. Cambridge: CRC Press, p. 551-592, 2007.
- MacFIE, H.J.H.; THOMSON, D.M.H. Preference mapping and multidimensional scaling. In: PIGGOTT, J. R. Sensory analysis of food . 2a Ed. New York: Elsevier Science Publishers, p. 381-409, 1998.
- MANCINI-FILHO, J.; VAN-KOIIJ, A.; MANCINI, D.A.; COZZOLINO, F.F.; TORRES, R.P. Antioxidant activity of cinnamon (*Cinnamomun zeylanicum*, Breyne) extracts. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, v.137, n.11, p.443-447, 1998.
- MARCELLINE, A. M. B. **Desenvolvimento de suco de abacaxi (ananas comosus (l.) merril) através da tecnologia de alta pressão hidrostática aplicada à polpa do fruto.** 2006. 134p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.
- MARCHI, R. de; MONTEIRO, M. Avaliação da Vida-de-Prateleira de um Isotônico Natural de Maracujá (*Passiflora edulis Sims. f. flavicarpa Deg.*). **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.6, n.2, p. 291-300, jul./dez., 2003.
- MARTINS, V. B. **Perfil sensorial de suco tropical de cupuaçu** (*Theobroma grandiflorum* **Schum**) **com valor calórico reduzido**. 2008. 142f. Tese (Doutorado em Alimentação e Nutrição) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.
- MATSUURA, F. C. A. U.; ROLIM, R. B. Avaliação da adição de suco de acerola em suco de abacaxi visando à produção de um "blend" com alto teor de vitamina c. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.138-141, abr. 2002.
- MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C.; SILVA, L. F. M. Suco de acerola microfiltrado: avaliação da vida-de-prateleira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.24, n.2, p.293-297, abr./jun. 2004.
- MATTIETTO, R. A.; SOARES, M. S.; RIBEIRO, C. C. Caracterização física e físico-química do fruto de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) proveniente de Belém –PA.

- In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 1., 2003, Aracaju. **Anais...** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. CD-ROM.
- MEDINA, J. C. Abacaxi: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos. 2° ed. Campinas: ITAL. 1987. 285p.
- MEYER, R.S; COOPER, K.L; KNORR, D; LELIEVELD, H.L.M. High pressure sterilization of foods. **Food Technology**, v.54, n.11, p.67-72, 2000.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. Sensory evaluation techniques. Boca Raton: CRC Press. 2007.
- MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 44, n. 2, p.193-201, 2008.
- MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A.C. S.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.3, p.639-644, 2006.
- MENEZES, E. M. S. **Efeito da alta pressão hidrostática em polpa de açaí précongelada** (*Euterpe aleraceae*, *Mart.*). 2005. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2005.
- MEZADRI, T.; VILLAÑO, D.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M.S.; GARCÍA-PARRILLA, M.C.; TRONCOSO, A.M. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n.4, p. 282-290, 2008.
- MURRAY, J.M.; DELAHUNTY, C.M.; E BAXTER, I.A. Descriptive sensory analysis: Past, present and future. **Food Research International**, v.34, p.461–471, 2001.
- NORTON, T.; SUN, D. W. Recent Advances in the Use of High Pressure as an Effective Processing Technique in the Food Industry. **Food Bioprocess Technology**, v.1, p.2-34, 2008.
- OEY, I.; LILLE, M.; LOEY, A. V.; HENDRICKX, M. Effect of high pressure processing on colour, texture and flavour of fruit and vegetable-based food. **Journal Food Science**, v.33, n.5, p.357-367, 2008.
- OGAWA, H.; FUKUHISA, K.; FUKUMOTO, H.; HORI, K.; HAYASHI, R. Effects of hydrostatic pressure on sterilization and preservation of freshly squeezed, nonpasteurized citrus juice. **Nippon Nogeikagaku Kaishi**, v.63, p.1109-114, 1989.
- OLIVEIRA, C.B.; SOARES, D.G.S.; PAULO, M.Q.; PADILHA, W.W. N. Atividade Antimicrobiana *in vitro* da *Eugenia uniflora L.* (Pitanga) sobre bactérias cariogênicas. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v.12, n.3, p.239-250, 2008.

- OLIVEIRA, F. M. N.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M.. Análise comparativa de polpas de pitanga integral, formulada e em pó. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.8, n.1, p.25-33, 2006.
- OLIVEIRA, F.M.N. **Secagem e armazenamento de Polpa de Pitanga**. 2006. 197p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2006.
- OLIVEIRA, J.C.; SETTI-PERDIGÃO, P.; SIQUEIRA, K.A.G.; SANTOS, A.C.; MIGUEL, M.A.L. Características microbiológicas do suco de laranja *in natura*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.2, p.241-245, abril./jun, 2006.
- PAL, D.; SACHDEVA, S.; SINGH, S. Methods for determination of sensory quality of foods: A critical appraisal. **Journal Food Science**, v.32, n.5, p.357-367, 1985.
- PALLET, D.; CABRAL, L.; MATTA,V.; PEZOA-GARCÍA, N.H.; MENEZES, H.C.; ABREU, F.A.P.; DORNIER, M.; REYNES, M. Aplicação da tecnologia de membranas no processamento de sucos de frutas Brasileiras. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, Brasília, v.22, n.2, p.427-437, maio/ago.2005.
- PALOU, E.; HERNANDEZ-SALGADO, C.; LÓPEZ-MALO, A.; BARBOSACÁNOVAS, G.V.; SWANSON, B.G.; WELTI-CHANES, J. High pressure-processed guacamole. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. v.1, p.69-75, 2000.
- PALOU, E LÓPEZ-MALO, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; WELTI-CHANES, J. & SWANSON, B. G. Polyphenoloxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. **Journal of Food Science**, v.64, n.1, p.42-45, 1999.
- PATERSON, M.F. Microbiology of pressure treated foods. **Journal of Applied Microbiology**, v.98, n.6, p.1400-1409, 2005.
- PATRAS, A.; BRUNTON, N. P.; PIEVE, S. D.; BUTLER, F. Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purée. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.10, n.3, p.308-313, 2009.
- PEREIRA, B. Processamento agrega valor. **Revista Frutas e Derivados**, São Paulo, v.1, n.3, p.19-26, set. 2006.
- PFEIFFER, C.; D'AUJOURD'HUI, J. W.; NUESSLI, J.; ESCHER, F. Optimizing food packaging and shelf life. **Food Technology**, Chicago, v.53, n.6, p.52-59, 1999.
- PINHEIRO, A.M.; FERNANDES, A.G.; FAI, A.E.C.; PRADO, G.M.; SOUSA, P.H.M.; MAIA, G.A. Avaliação química, físico-química e microbiológica de sucos de frutas integrais: abacaxi, caju e maracujá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n.26, v.1, p.98-103, jan./mar. 2006.

- POLYDERA, A.C.; STOFOROS, N.G.; TAOUKIS, P.S. Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurized and pressure processed reconstituted orange juice. v. 60, p. 21-29, 2003.
- POMPEU, D. R.; SILVA, E. M.; ROGEZ, H. Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using response surface methodology. **Bioresource Technology**, v. 100, n.23, p. 6076-6082, 2009.
- PONTES, M.M.M. Polpa de manga processada por alta pressão hidrostática: aspectos microbiológicos, nutricionais, sensoriais e a percepção do consumidor. 2008. 122f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.
- PRÉSTAMO, G.; ARROYO, G. High hydrostatic pressure effects on vegetables structure. **Journal of Food Science**, v.63, n.5, p.878-881, 1998.
- PUYARES, V.; ARES, G.; CARREAU, F. Searching a specific bottle for Tannat wine using a check-all-that-apply question and conjoint analysis. **Food Quality and Preference**, Barking, v.21, n. 7, p. 684-691, out. 2010.
- RAHMAN, I.; ADCOCK, I.M. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in copd. **European Respiratory Journal**, v.28, n.1, p.214-219, 2006.
- REYNERSTON, K.A.; YANG, H.; JIANG B.BASILE, M.B.; KENNELY, E.J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible *Myrtaceae* fruits. **Food Chemistry**, v.109, n.4, p.883-890, 2008.
- RIBEIRO, S.C.A.; RIBEIRO, C.F.A.; PARK, K.J.; ARAUJO, E.A.F.; SATOSHI TOBINAGA. Alteração da cor da carne de mapará (*hypophthalmus edentatus*) desidratada osmoticamente e seca. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.9, n.2, p.125-135, 2007.
- ROBARDS, K.; ANTOLOVICH, M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. A Review. **Analyst**, v.122, n.2, p.11-34, 1997.
- ROCHA, M.C.,; DELIZA, R.; ARES, G.; FREITAS, D.G.; CARMO, M.; ABBOUD, A. Identifying promising accessions of cherry tomato: a sensory strategy using consumers and chefs. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, p. 9, 2013.
- RODRIGO, D.; VAN LOEY, A. & HENDRICKX, M. E. Combined thermal and high pressure colour degradation of tomato puree and strawberry juice. **Journal of Food Engineering**, n.79(2), p.553–660, 2007.
- RODRIGUES, H. G.; DINIZ, Y. S. A.; FAINE, L. A.; ALMEIDA, J. A.; FERNANDES, A.A.H.; NOVELLI, E.L.B. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rutina na concentração de colesterol-HDL. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.16, n.3, p.315-320, 2003.

- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A guide to carotenoid analysis in foods. Washington, D.C.: ILSI Press, 1999.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Behavior of flavonols and carotenoids during storage of minimally processed leaves under passive modifi ed atmosphere packaging. In: **AMERICAN CHEMICAL SOCIETY MEETING**, 236th, Philadelphia, 2008. Anual... Philadelphia: ACS, 2008.
- ROMAGNOLO, M. B.; SOUSA, M. C. O. Gênero *Eugenia* L. (Myrtaceae) na planície alagável do Alto Rio Paraná, Estados de Mato Grosso do Sul e Paraná, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.20, n.3, p.529-548, 2006.
- ROSENTHAL, A.; SILVA, J.L. Alimentos sob pressão. **Engenharia de Alimentos**, São Paulo, v.14, p.37-39, 1997.
- RUFINO, M.S.M., ALVES, R.E., BRITO, E.S., MORAIS, S.M., SAMPAIO, C.G., PÉREZ-JIMÉNEZ, J., SAURA-CALIXTO, F.D., Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH, Comunicado Técnico On-line, Fortaleza-CE, junho (2007).
- SALGADO. S. M.; GUERRA, N. B.; MELO FILHO, A. B. Polpa de fruta congelada: efeito do processamento sobre o conteúdo de fibra alimentar. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.12, n.3, p.303-308, set./dez. 1999.
- SALVADOR, A.; FISZMAN, S.M.; CURIA, A.; HOUGH, G. Survival Analysis Applied to Sensory Shelf Life of Yogurts II: Spanish Formulations. **Journal of Food Science**, v.70, n.7, p.446-449, 2005.
- SAN MARTÍN, M.F.; BARBOSA-CÀNOVAS; G.V.; SWANSON, B.G. Food processing by hydrostatic pressure. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.42, n.6, p.627-645, 2002.
- SANCHEZ, C.M.; PLAZA, L.; ANCOS, B.; CANO, M.P. Effect of combined treatments of high- pressure and natural additives on carotenoid extractability and antioxidant activity of tomato puree (*Lycopersicum esculentum* Mill.). **European Food Research and Technology**, v.219, n.2, p.151-160, 2004.
- SÁNCHEZ-MORENO, C.; PLAZA, L.; DE ANCOS, B.; CANO, M. P. Vitamin C, provitamin A carotenoids, and other carotenoids in high-pressurized Orange juice during refrigerated storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.8, p.647-653, 2003.
- SANTOS, A. F.; SILVA, S. M.; MENDONÇA, R. M. N.; SILVA, M. S. Alterações Fisiológicas Durante a Maturação de Pitanga (*Eugenia uniflora* L.). **Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**, v.46, p.52-54, out. 2002.
- SANTOS, A.F; SILVA, S.M; MENONÇA, R.M; SILVA,M.S; ALVES,R.E; ALMEIDA,H. Alterações fisiológicas durante a maturação de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) dos tipos vermelho e roxo. **Anais do 48th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture,** Tegucigalpa, Honduras, 2003.

- SCALZO, J.; POLITI, A.; PELLEGRINI, N.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. **Nutrition**, v.21, n.2, p.207-213, 2005.
- SHINAGAWA, F.B. Avaliação das características bioquímicas da polpa de mamão (*Carica papaya* L) processada por alta pressão hidrostática. 2009. 135f. Dissertação (Processos Químicos e Bioquímicos)- Área de Tecnologias Alternativas para Conservação de Alimentos ,Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.
- SIKORSKI, A.M.P. Avaliação do potencial tecnológico da pitanga (*Eugenia uniflora* L.) com base nas suas características anatômicas, físicas e químicas. 2009. 121f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2009.
- SILVA, E.M.; SOUZA, J.N.S.; ROGEZ, H.; REES,J.F.; LARONDELLE, Y. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. **Food Chemistry.**, v. 101, n.3, p.1012-1018, 2007.
- SILVA, S. M. Pitanga. Revista Brasileira de Fruticultura, v.28, n.1, p.1-159, 2006.
- SMELT, J. P. P. M. Recent advances in the microbiology of high pressure processing. **Trends in Food Science and Technology**, Oxford, v.9, n.1, p.152-158, 1998.
- SOUZA. A.P.F.; MARTINS, C.M.; BADARÓ, A.C.L. Análise das características microbiológicas do suco de manga comercializado em Ipatinga MG, em relação aos diferentes tipos de embalagens. **Revista Digital de Nutrição**, Ipatinga, v. 3, n. 4, p. 299-311, fev./jul. 2009.
- SOUSA, P. H. M. Adição de extratos de Ginkgo biloba e Panax ginseng em néctares mistos de frutas tropicais. **Ciência e Tecnologia de alimentos**, Campinas, v.30, n.2, p.463-470, 2010.
- STONE, H.; SIDEL, J. **Sensory evaluation practices**. 2ed. New York: Academic Press, 1993. 338 p.
- STONE, S.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices.** Londres: Academic Press. 2004. 311 p.
- SUN, D.W. Emerging technologies for food processing. Elsevier. 2005. 771 p.
- SYMONEAUX, R.; GALMARINI, M.V.; MEHINAGIC, E. Comment analysis of consumer's likes and dislikes as an alternative tool to preference mapping. A case study on apples. **Food Quality and Preference**, Barking, v.24, n.1, p.59-66, 2012.
- SZCZESNIAK, A. S. Classification of mouthfeel characteristics of beverages. In: SHERMAN, P. (Ed.). **Food Texture and Rheology**. London: Academic Press, 1979. p.1-20

- **TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS** TACO. 4ª Edição. Campinas.SP, 2011.
- TEIXEIRA, N.C. **Desenvolvimento, caracterização físico-química e avaliação sensorial de suco de jabuticaba** (*myrciaria jaboticaba* (**vell berg**). 2011. 137f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos)-Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2011.
- TEWARI, G.; JAYAS, D. S.; HOLLEY, R. A. High Pressure Processing of Foods: An Overview. **Science des Aliments**, v.19, p.619-661, 1999.
- THAIPONGA, K.; BOONPRAKOBA, U.; CROSBYB, K.; CISNEROS-ZEVALLOSC, L.; BYRNEC, D.H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 669-675, 2006.
- TIBURSKI, J. H. **Polpa de Cajá** (*Spondias mombin L.*) processada por alta pressão hidrostática. 2009. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2009.
- TOMASSEN, M. & VAN DEN BERG, R. W. Combined high pressure and thermal treatments for processing of tomato puree: Evaluation of microbial inactivation and quality parameters. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.4,n.4, p. 377-385, 2003.
- TORREZAN, R. Uso da tecnologia de alta pressão para a inativação de microrganismos em produtos cárneos. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba,, v.21, n.2, p.249-266, jul./dez. 2002.
- TOURNAS, V. Heat Resistant Fungi of importance to the food and beverage industry. **Critical Review Microbiology**, v.20, n.4, p.243-263, 1994.
- TREPTOW, R. O. Avaliação físico-química e sensorial de fatias desidratadas de maçãs (*Malus domestica Borkh*). 1993. 104f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul,1993.
- TRINDADE, R.C.; RESENDE, M.A.; SILVA, C.M.; ROSA, C.A. Yeasts associated with fresh and frozen pulps of brazilian tropical fruits. **Systematic Applied Microbiology**, v.25, n.2, p.294-300, 2002.
- VAN LOEY, A.; OOMS, V.; WEEMAES, C.; VAN DEN BROECK, I.; LUDIKHUYZE, L.; INDRAWATI; DENYS, S.; HENDRICKX, M. Thermal and Pressure-Temperature Degradation of Chlorophyll in Broccoli (Brassica oleracea L. italica) Juice: A Kinetic Study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, n.12, p.5289-5294, 1998.

VILANOVA, M; MASSA, A; TARDAGUILA, J. Evaluation of the aroma descriptors variability in Spanish grape cultivars by a quantitative descriptive analysis. **Euphytica**, v.165, n2, p.383-389, 2009.

VISOTTO, M. Fitoquímicos em pitanga (Eugenia uniflora L.): seu potencial na prevenção e combate à doenças. In: III SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO,40-42. 1992, Pelotas. **Anais ...** Embrapa Clima Temperado, 2006. Documentos 171 On line.

WALLACE, H. A. et al. *Salmonella*. In: FRANCES, D. P.; ITO, K. (Org.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Washington, DC: APHA, 2001. p. 357-380.

WOLBANG, C.M.; FITOS, J L.; TREEBY, M.T. The effect of high pressure processing on nutritional value and quality attributes of *Cucumis melo* L. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.9, p.196-200, 2008.

WU, X. et al. Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of ribes, aronia, and sambucus and their antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.52, n.26, p.7846-7856, 2004.

ZULUETA, A.; ESTEVE, M. J.; FRÍGOLA, A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. **Food Chemistry**. v.114, n.1, p.310-316, 2009.

# 8. ANEXOS

Anexo A. Modelo de ficha utilizada no teste sensorial de aceitação e CATA.

				<b>Embrapa</b>	9				
			Agroin	dústria de /	Alimentos				
Consumidor	Consumidor: Amo								
Você está re gostou utiliz			a de Suco d	e Pitanga. F	or favor, <i>pro</i>	e a amostr	a e avalie d	o quanto você	
desgostei de extremamente	□ esgostei muito m	□ desgostei noderadamente	☐ desgostei ligeiramente	não gostei e nem des gos	☐ gostei tei ligeiramente	gostei moderame	goste nte muito	i gostei extremamente	
Marque toda	ıs as pala	vras que vo	cê considera	a adequada	para descrev	er esse suc	0:		
		S	abor de pita	ınga( )	Delicioso ( )				
			Aroma cít	trico( )	Gosto Ácido ( )				
		Apa	rência Aren	osa()	Aroma bom ( )				
			R	talo ( )			Con	centrado ( )	
			Sabor estrai	nho ( )	Sabor de passado ( )				
			Sem sa	bor()	Cor atrativa ( )				
		Ar	oma de pita	nga()	Amargo ( )				
			Adstringe	ente ( )	Aroma estranho ( )				
			Sem açú	icar()	Gosto doce ( )				
nalysis).		Ava	liação de s	suco de pi	tanga				
Nome:	::				Data: An			nostra:	
	CONSU	uma amos MIRIA ESS			a. ido que con	nprou e te	em o prod	duto na	
□ SIN □ NÃ									
Por favo	r, anote	na escala a	baixo o qu	anto gosto	u da bebida.				
Desgostei muitissimo	Não gostei nem desgostei							Gostei muitissimo	

Anexo C. Modelo do questionário socioeconômico utilizado nos testes sensoriais.

			ESTUDO SO	STUDO SOBRE SUCO DE PITANGA Data:						
1. (	Consumidor:									
2. Sexo: [ ] feminino				[ ] masculino						
3.	Idade:									
[]	18-25	[ ] 26–35	[]3	6-45	[]46-55	[]5	6-65	[]≥66	anos	
4. I	Escolaridade:									
[ ] 1° gran				2º grau [ ] pós g   superior incompleto   superior				ão		
5.	Profissão:									
6. I	Renda familia	mensal (sa	alário mínir	no: R\$ 622	,00):					
	1 a 5 salários >10 a 20 salár				alários míni salários mín		[]>30	salários n	nínimos	
7. C	com que frequ	ência você	toma suco	de frutas?						
por mês ve			Uma vez a cada 15 dias	ez a V ada		Todos os dias		Mais de uma vez por dia		
Eu	Quem compra mesma (o) ra pessoa	o suco de f	rutas que v	ocê consom	ne?					
	Por favor, n						erimentar	novos ali	imentos	
пп			1							
detesto		mai		s ou menos		adoro		oro		
	Marque na c colunas da di					ocê já exp	erimentou	e em um	a	
		Desgosto muito	Desgosto modera- damente	Desgosto pouco	Nem gosto nem desgosto	Gosto pouco	Gosto modera- damente	Gosto muito		
	Graviola								1	
	Cajá	00000								
	Pitanga		00000					00000		
	Umbu									
0	Cajá- manga									
	Cupuaçu Romã									
	Camu- camu									
-		П							I	