

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Parecer

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Este exemplar corresponde a redação final
da tese defendida por Leonardo César Amstalden
e aprovada pela Comissão Julgadora em
21.05.92

Morris W. Montgomery

"ESTUDO SOBRE A AÇÃO DE PECTINESTERASE
EM SUCO DE LARANJA"

LEONARDO CÉSAR AMSTALDEN 6/82
Engenheiro de Alimentos

PROF. Dr. MORRIS WILLIAM MONTGOMERY 11
Orientador

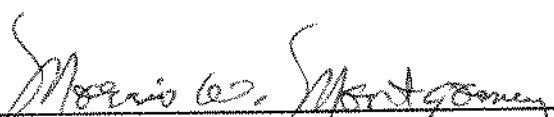
14/92

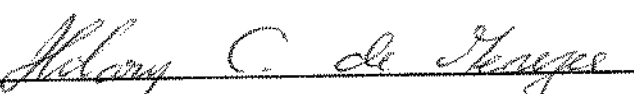
TESE APRESENTADA À FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS DA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO
DE MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS.

ABRIL - 1992

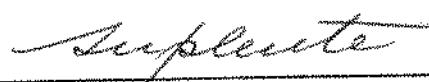
MAIO

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Morris William Montgomery
Orientador


Prof. Dr. Hilary Castle Menezes
Membro


Prof. Dr. Roberto Herminio Moretti
Membro


Prof. Dr. Nelson Horacio Pezoa Garcia
Membro

THE ROAD NOT TAKEN

*The roads diverged in a yellow wood
And sorry I could not travel both
And be one traveler. Long I stood
And looked down one as far as I could
To where it bent in the undergrowth;*

*Then took the other, as just as fair,
And having perhaps the better claim,
Because it was grassy and wanted wear;
Though as for the passing there
Had worn them really about the same.*

*And both that morning equally lay
In leaves no step had trodden black.
Oh, I kept the first for another day!
Yet knowing how way leads on to way,
I doubted if I should ever come back.*

*I shall be telling this with a sigh
Somewhere ages and ages hence:
Two roads diverged in a wood, and I -
I took the less traveled by,
And that has made all the difference.*

Robert Frost

A Suely,
com amor e saudade...

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de toda vida.

A meus pais e irmãos, pelo amor, trabalho, dedicação e compreensão.

Ao Prof. Dr. Morris William Montgomery, pela orientação segura, disponibilidade e grande amizade.

Aos profs. Drs. Hilary C. Menezes, Roberto H. Moretti e Nelson Horácio Pezoa Garcia pelas sugestões que contribuíram para solucionar os problemas surgidos ao longo da pesquisa e pela colaboração na redação desta tese.

A Citrosuco Paulista S/A pelo fornecimento de amostras de suco de laranja concentrado.

A Braspectina S/A pelo fornecimento de pectina.

A Abrassucos pelo fornecimento de dados estatísticos sobre a produção e comercialização de suco de laranja.

Ao Sr. Hristo Peev, pelas amostras de laranja.

Aos órgãos CNPQ, FAPESP e FAEP pelas bolsas de estudos.

Ao departamento de Tecnologia de Alimentos e à Faculdade de Engenharia de Alimentos pela possibilidade da realização deste trabalho.

Ao CTAA da EMBRAPA do Rio de Janeiro pelas determinações de Cálcio e Magnésio em suco de laranja.

A Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação pelo auxílio financeiro na impressão deste trabalho.

Aos colegas Lilliana, Rosemar, Tereza, Denise, Caroline, Márcia, Marisa, Raquel, Ilana, Edilene, Patrícia, Jardine, Walter e Fernando pela amizade e pelo apoio nos momentos difíceis.

Aos demais colegas da pós graduação do Departamento de Tecnologia de Alimentos; aos professores; aos funcionários e técnicos de outros laboratórios sempre dispostos a colaborar; aos funcionários da secretaria, Marlene, Susi, Marçal e Marcos.

Finalmente a três pessoas muito especiais:

A Ana e Natalina pelo carinho e pelo auxílio de todas as horas.

A IVANA, cuja colaboração, incentivo, afeto e bondade, tanto durante a parte experimental quanto na redação final, foram em grande parte responsáveis pelo êxito desta pesquisa.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
RESUMO	1
SUMMARY	3
 1 - INTRODUÇÃO	 5
2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
2.1 - Laranjas	7
2.2 - Classificação	8
2.3 - Citricultura brasileira no século XX	11
2.4 - Variedades de citrus produzidas no Brasil	12
2.5 - Produção de suco de laranja concentrado	15
2.5.1 - Matéria - Prima	15
2.5.2 - Processamento	15
2.5.2.1 - Seleção	15
2.5.2.2 - Extração	17
2.5.2.3 - Finisher e centrifugas	18
2.5.2.4 - Tratamento térmico e concentra- ção	18
2.5.2.5 - Resfriamento e armazenamento ...	20
2.6 - Comercialização	21
2.7 - Composição da laranja	28
2.7.1 - Estrutura da fruta	28
2.7.2 - Composição Química	30
2.7.3 - Açúcares	31
2.7.4 - Ácidos orgânicos	32
2.7.5 - Pectina	32
2.7.5.1 - Pectina no tecido celular	35
2.7.5.2 - Características e propriedades .	38
2.7.5.3 - Mudanças na pectina durante a maturação	39
2.7.6 - Compostos nitrogenados.....	40
2.7.6.1 - Proteínas e enzimas.....	40
2.7.6.2 - Enzimas que atuam na pectina....	46
2.7.6.2.1 - Pectinesterase.....	46
2.7.6.2.2 - Poligalacturonase...	50
2.7.6.2.3 - Pectina e pectato liases	51
2.8 - Turbidez em sucos cítricos	51
2.8.1 - Processo de clarificação	55
2.9 - Estabilização	58
2.9.1 - Métodos alternativos	70
 3 - MATERIAL e MÉTODOS	 74
3.1 - Material utilizado	74
3.2 - Métodos	75
3.2.1 - Caracterização do produto	75
3.2.1.1 - Determinação de pH	75

3.2.1.2 - Determinação de sólidos solúveis (Brix)	76
3.2.1.3 - Determinação de acidez titulável	77
3.2.2 - Determinações	77
3.2.2.1 - Determinação da estabilidade da turbidez	77
3.2.2.2 - Atividade de pectinesterase	78
3.2.2.3 - Resistência térmica	79
3.2.2.4 - Atividade enzimática residual ..	80
3.2.2.5 - Teor de polpa	80
3.2.2.6 - Cálcio e magnésio	80
4 - RESULTADOS e DISCUSSÕES	82
4.1 - Desenvolvimento do método para atividade de PE ...	82
4.2 - Atividade enzimática em função da maturação da fruta e do grau de extração do suco	86
4.3 - Resultados de atividade versus temperatura	92
4.4 - Resultados de Resistência térmica	98
4.4.1 - Laranja Valência	98
4.4.2 - Laranja Pêra Rio	104
4.4.3 - Laranja Pêra Coroa	104
4.4.4 - Laranja Natal	104
4.5 - Atividade enzimática em função do pH	109
4.6 - Análise das amostras de suco concentrado industrial	112
4.7 - Análise de cálcio e magnésio	113
4.8 - Análise da estabilidade dos sucos	114
4.8.1 - Suco concentrado	115
4.8.2 - Suco recém extraído	116
4.8.3 - Suco com adição de cálcio	120
4.8.4 - Suco liofilizado	122
5 - CONCLUSÕES	124
6 - APÊNDICE A	128
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	180

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1	- Classificação dos frutos cítricos	10
TABELA 2	- Estimativa do rendimento de extração de suco de laranja	17
TABELA 3	- Condições aproximadas de evaporação de um evaporador "TASTE" de 7 efeitos para concentração de suco de laranja	20
TABELA 4	- Estimativa das importações de suco de laranja pelos Estados Unidos	24
TABELA 5	- Evolução das exportações brasileiras de suco concentrado de laranja por mercado comprador (%)	25
TABELA 6	- Maiores empresas exportadoras de suco concentrado em 1990 (%)	25
TABELA 7	- Composição percentual da laranja	30
TABELA 8	- Composição química da laranja	30
TABELA 9	- Mudanças sazonais na composição de açúcares em suco de laranjas Valência	31
TABELA 10	- Relação entre o grau de esterificação, teor de metoxil e peso equivalente de ácido pectínico puro	35
TABELA 11	- Enzimas relatadas em citrus	41
TABELA 12	- Distribuição da atividade de PE em várias partes de laranjas Valência	49
TABELA 13	- Distribuição da atividade de PE em várias partes de laranjas "Pineapple"	50
TABELA 14	- Elementos da turbidez em suco de laranja	55
TABELA 15	- Grau de inativação enzimática em suco de grapefruit	62
TABELA 16	- Temperatura de processamento e valores de "Z" para diferentes variedades de sucos cítricos ...	64
TABELA 17	- Influência de vários compostos na atividade de PE	66
TABELA 18	- Efeito das frações de PE na turbidez do suco de laranja	66
TABELA 19	- Atividade de PE versus maturação - Laranja Péra Coroa	88
TABELA 20	- Atividade de PE versus extração - Laranja Péra Coroa	91
TABELA 21	- Atividade enzimática versus temperatura	93
TABELA 22	- Resistência térmica de PE - Laranja Valência ...	98
TABELA 23	- Resistência térmica de PE - Laranja Péra Rio ...	104
TABELA 24	- Resistência térmica de PE - Laranja Péra Coroa .	105
TABELA 25	- Resistência térmica de PE - Laranja Natal	105
TABELA 26	- Porcentagem da atividade enzimática de PE em função do pH do meio	110
TABELA 27	- Cálcio e magnésio em suco de laranja	114
TABELA 28	- Teste de estabilidade das amostras de suco concentrado	116
TABELA 29	- Desestabilização da turbidez em suco da laranja em função do tempo	117

TABELA 30 - Desestabilização da turbidez em suco de laranja em função da adição de cálcio	120
---	-----

TABELA 31 - Perda de estabilidade de suco liofilizado de laranjas Pera Coroa	123
--	-----

TABELAS DO APÊNDICE A

TABELA A1 - Teste de repetibilidade	128
TABELA A2 - Obtenção do branco	129
TABELA A3 - Laranja Pera Rio: atividade x temperatura	131
TABELA A4 - Laranja Pera Coroa: atividade x temperatura ...	134
TABELA A5 - Laranja Natal: atividade x temperatura	137
TABELA A6 - Laranja Valência: atividade x temperatura	140
TABELA A7 - Resistência térmica laranja Valência - tratamento a 60°C - leitura a 30°C	143
TABELA A8 - Resistência térmica laranja Valência - tratamento a 60°C - leitura a 60°C	145
TABELA A9 - Resistência térmica laranja Valência - tratamento a 60°C - leitura a 70°C	146
TABELA A10 - Resistência térmica laranja Valência - tratamento a 70°C - leitura a 30°C	148
TABELA A11 - Resistência térmica laranja Valência - tratamento a 70°C - leitura a 60°C	149
TABELA A12 - Resistência térmica laranja Valência - tratamento a 70°C - leitura a 70°C	151
TABELA A13 - Resistência térmica laranja Valência - tratamento a 80°C - leitura a 30°C	152
TABELA A14 - Resistência térmica laranja Valência - tratamento a 80°C - leitura a 60°C	153
TABELA A15 - Resistência térmica laranja Valência - tratamento a 80°C - leitura a 70°C	155
TABELA A16 - Resistência térmica laranja Valência - tratamento a 90°C - leitura a 30°C	156
TABELA A17 - Resistência térmica laranja Valência - tratamento a 90°C - leitura a 60°C	157
TABELA A18 - Resistência térmica laranja Valência - tratamento a 90°C - leitura a 70°C	158
TABELA A19 - Resistência térmica laranja Pera Rio - tratamento a 60°C - leitura a 60°C	159
TABELA A20 - Resistência térmica laranja Pera Rio - tratamento a 70°C - leitura a 60°C	160
TABELA A21 - Resistência térmica laranja Pera Rio - tratamento a 80°C - leitura a 60°C	161
TABELA A22 - Resistência térmica laranja Pera Rio - tratamento a 90°C - leitura a 60°C	163
TABELA A23 - Resistência térmica laranja Pera Coroa - tratamento a 60°C - leitura a 60°C	164
TABELA A24 - Resistência térmica laranja Pera Coroa - tratamento a 70°C - leitura a 60°C	166
TABELA A25 - Resistência térmica laranja Pera Coroa - tratamento a 80°C - leitura a 60°C	167

TABELA A26	- Resistência térmica laranja Pêra Coroa - tratamento a 90°C - leitura a 60°C	168
TABELA A27	- Resistência térmica laranja Natal - tratamento a 80°C - leitura a 60°C	169
TABELA A28	- Resistência térmica laranja Natal - tratamento a 70°C - leitura a 60°C	170
TABELA A29	- Resistência térmica laranja Natal - tratamento a 80°C - leitura a 60°C	171
TABELA A30	- Resistência térmica laranja Natal - tratamento a 90°C - leitura a 60°C	173
TABELA A31	- Atividade x pH, laranja Pêra Rio	173
TABELA A32	- Atividade x pH, laranja Valência	175
TABELA A33	- Atividade x pH, laranja Pêra Coroa	176
TABELA A34	- Atividade x pH, laranja Natal	178

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1	- Principais áreas de produção de laranjas no Brasil e no estado de São Paulo	13
FIGURA 2	- Fluxograma de produção de suco de laranja concentrado	16
FIGURA 3	- Exportação brasileira de suco de laranja concentrado	22
FIGURA 4	- Volume de exportação de suco de laranja concentrado	26
FIGURA 5	- Receita (em dólares americanos) das exportações de suco de laranja concentrado	27
FIGURA 6	- Corte transversal da laranja	29
FIGURA 7	- Parte de uma molécula de pectina	35
FIGURA 8	- Modelo estrutural da parede celular de uma planta	37
FIGURA 9	- Sub-unidades de ácido D-galacturônico	38
FIGURA 10	- Reações enzimáticas na molécula de pectina	52
FIGURA 11	- Possível mecanismo de degradação enzimática da pectina por PE e PG	71
FIGURA 12	- Modelo de complexo estável da turbidez em suco de laranja	73
FIGURA 13	- "Branco" - Correção da atividade de PE para temperaturas superiores a 50°C	85
FIGURA 14	- Atividade de PE x temperatura em suco de laranja antes e depois de modificações na metodologia ..	87
FIGURA 15	- Atividade de PE versus maturação das frutas	90
FIGURA 16	- Atividade de PE versus temperatura	94
FIGURA 17	- Curva de Arrhenius do efeito da temperatura na atividade de PE	97
FIGURA 18	- Resistência térmica de PE a 60°C - laranja Valência	100
FIGURA 19	- Resistência térmica de PE a 70°C - laranja Valência	101
FIGURA 20	- Resistência térmica de PE a 80°C - laranja Valência	102
FIGURA 21	- Resistência térmica de PE a 90°C - laranja Valência	103
FIGURA 22	- Resistência térmica de PE - laranja Pêra Rio ...	106
FIGURA 23	- Resistência térmica de PE - laranja Pêra Coroa .	107
FIGURA 24	- Resistência térmica de PE - laranja Natal	108
FIGURA 25	- Atividade de PE versus pH	111
FIGURA 26	- Desestabilização da turbidez em suco de laranja em função do tempo	118
FIGURA 27	- Desestabilização da turbidez em suco de laranja Pêra Coroa em função da adição de cálcio	121

RESUMO

Neste trabalho foram determinados vários parâmetros relacionados com a ação de Pectinesterase (PE) em suco de laranja, preparados de quatro variedades utilizadas pela indústria de sucos cítricos no Brasil: Pêra Rio, Pêra Coroa, Natal e Valência. Os seguintes itens foram estudados:

1) Atividade enzimática e efeito do tratamento térmico objetivando sua inativação, a várias temperaturas:

Os resultados mostram que a temperatura ótima de atividade enzimática ficou ao redor de 80°C para todas as amostras de suco, mas as atividades máximas diferiram bastante entre as variedades. Elas foram de $169,5 \times 10^3 \text{PEu/g ss}$ (de sólidos solúveis) para o suco de laranjas Valência, $75,1 \times 10^3 \text{PEu/g ss}$ para o suco de Pêra Rio, $65,2 \times 10^3 \text{PEu/g ss}$ para o suco de Pêra Coroa e $154,6 \times 10^3 \text{PEu/g ss}$ para o suco de laranjas Natal.

Estudando-se o efeito do tratamento térmico na inativação enzimática a várias temperaturas e tempos de retenção, não foi encontrada atividade enzimática residual após dois minutos a 90°C, exceção feita ao suco de laranjas Valência. A 80°C apenas o suco feito de laranjas Pêra Coroa foi completamente inativado após um curto período de retenção (4 min). Todos os outros apresentaram atividade residual após sete minutos.

2) Efeito de pH na atividade enzimática:

Os valores de pH ótimo foram entre 7,5 e 8,0 para as variedades Pêra Rio, Pêra Coroa e Valência, e 7,0 para a variedade Natal. A valores de pH entre 3,0 e 4,0 (pH normal da fruta) a atividade medida foi de 0 a 8,1% dos valores máximos.

3) Efeito da maturação da fruta na atividade enzimática:

A atividade enzimática no suco foi maior a valores de relação Brix/acidez baixos (fruta imatura), diminuindo com o amadurecimento.

4) Procura de atividade residual de PE em suco de laranja concentrado industrialmente e determinação dos níveis de íons Ca^{2+} e Mg^{2+} em diferentes amostras de suco.

Não foi encontrada atividade residual nos concentrados industriais. Também não foram detectados níveis anormais de íons Ca^{2+} e Mg^{2+} nas amostras.

5) Perda de turbidez em suco não concentrado, PE ativo.

A perda da turbidez em função do tempo provou ser uma característica particular de cada variedade. A mais estável foi a Pêra Coroa e a menos estável foi a variedade Valência.

6) Perda de turbidez em sucos concentrados, PE ativos e inativos.

Os concentrados, PE ativos e inativos, apresentaram uma turbidez estável, mesmo após permanecerem 120 horas a 30°C.

7) Efeito dos íons Ca^{2+} na perda de turbidez.

A adição de 10mg/100g e 20mg/100g de íons Ca^{2+} ao suco acelerou a perda de turbidez. Quando 30mg/100g e 40mg/100g foram adicionados o comportamento foi o mesmo da amostra controle.

SUMMARY

An investigation was undertaken to determine and compare various parameters related to the action of Pectinesterase (PE) in orange juice, and its effect on cloud stability. The juice was made from four varieties of orange used by brazilian citrus processors: Pera Rio, Pera Coroa, Natal and Valencia. The following items were studied:

- 1) Enzyme activity and effect of heat treatment on enzyme inactivation at various temperatures.

The results show that the optimum temperature for enzyme activity was approximately 60°C for all the juice samples but the maximum activities differed widely among the varieties. They were $169.5 \times 10^3 \text{PEu/g ss}$ (of soluble solids) for the Valencia juice, $75.1 \times 10^3 \text{PEu/g ss}$ for the Pera Rio juice, $65.2 \times 10^3 \text{PEu/g ss}$ for the Pera Coroa juice and $154.6 \times 10^3 \text{PEu/g ss}$ for the Natal juice.

There was no residual enzyme activity found after two minutes of heat treatment at 90°C, with the exception of the Valencia juice. At 80°C only the juice made from Pera Coroa oranges was completely inactivated after a short holding time (4 minutes). All of the others showed residual activity after seven minutes.

- 2) Effect of pH on enzyme activity.

The optimum pH values were between 7.5 and 8.0 for the varieties Pera Rio, Pera Coroa and Valencia, and 7.0 for the variety Natal. At pH values ranging from 3.0 to 4.0 (normal pH of the fruit) the measured activity was 0 to 6.1% of the maximum values.

3) Effect of fruit ripening on enzyme activity.

The enzyme activity in the juice was higher at a very low Brix/acid ratio (green fruit), decreasing as the fruit ripens.

4) Search for residual activity in industrial orange juice concentrate and determination of the levels of Ca^{2+} and Mg^{2+} ions in different juice samples.

No residual activity was found on industrial concentrates. Also no abnormal levels of Ca^{2+} and Mg^{2+} were found in the samples.

5) Cloud loss on single strength, PE active orange juice.

Cloud loss as a function of time showed to be a particular characteristic of each variety. The most stable one was Pera Coroa and the least stable was Valencia.

6) Cloud loss on PE active and inactive concentrates.

The concentrates, PE active and inactive, had a very stable cloud, even after standing 120 hours at 30°C .

7) Effect of Ca^{2+} ion on cloud loss.

The addition of 10mg/100g and 20mg/100g of Ca^{2+} ions to the juice accelerated the loss of cloud. When 30mg/100g and 40mg/100g were added the pattern was the same as the control sample.

I - INTRODUÇÃO

A atual importância da citricultura brasileira e a conseqüente industrialização das frutas cítricas é fato inquestionável, tanto para a geração de empregos como de divisas. A exportação de suco de laranja concentrado vem crescendo ano a ano, e o mercado em expansão tem atraído novas indústrias para o setor.

Para atender as necessidades de mercado e consumidores cada vez mais exigentes quanto à qualidade do produto a ser adquirido, a pesquisa tecnológica se faz necessária, visando aprimorar as técnicas de produção e conservação dos produtos.

Dentre as várias características que conferem aceitabilidade ao suco de laranja industrializado, a turbidez, ou seja, a suspensão coloidal de partículas sólidas e óleo emulsionado, tem importância destacada pois propicia ao produto um aspecto muitas vezes definido pelo consumidor como "natural" ou "fresco", numa alusão ao suco recém-extraído. Se essa turbidez é perdida, o produto é convertido num sistema de duas fases de aspecto pouco atrativo, diminuindo seu valor comercial.

O principal elemento tido como responsável pela clarificação do suco é a ação da enzima pectinesterase sobre a pectina presente. Assim procura-se inativá-la, usualmente com um tratamento térmico, que também confere ao suco estabilidade microbiológica.

Embora muito já se tenha estudado sobre a ação da pectinesterase em suco de laranja no exterior, pouco se sabe sobre seu comportamento em variedades cultivadas e utilizadas pela indústria de suco no Brasil. Essas variedades, muitas vezes

semelhantes às utilizadas em outros países, podem ter sofrido consequências de frequentes hibridações, do clima, solo e tratos culturais, apresentando assim características a elas peculiares.

Este trabalho vem caracterizar a atividade de pectinesterase em quatro variedades de laranja utilizadas pela indústria nacional na fabricação de suco concentrado, e sua influência no processo de clarificação.

II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - LARANJAS

Laranjas são frutas do gênero *Citrus*, que também inclui limas, limões, tangerinas e "Grapefruit". Sua origem e história não são completamente conhecidas, porém acredita-se que sejam nativas das regiões tropicais e subtropicais da Ásia. Referências a frutas cítricas podem ser encontradas em antigos manuscritos e documentos chineses, sendo que a primeira delas aparece no livro "Yu Kung" ou seja "Tributo de Yu", datado do ano 2000 A.C. (RAMANA e colaboradores, 1981).

Nos documentos médicos mais antigos existentes na Índia, escritos em sânscrito aproximadamente no ano 100 A.C., chamados "Charoka Samhita", o nome que designa laranjas aparece pela primeira vez. (RAMANA e colaboradores, 1981).

Vasco da Gama introduziu as laranjas em Portugal quando voltou do oriente em 1498. Já nas Américas, as frutas cítricas foram trazidas pelos colonizadores portugueses e espanhóis. Os primeiros pomares foram plantados na Flórida por volta do ano 1655, sendo que na Califórnia apareceram aproximadamente um século mais tarde. A produção comercial iniciou-se nesses dois estados americanos na segunda metade do século 19 (RAMANA e colaboradores, 1981).

No Brasil estas frutas chegaram com as primeiras expedições colonizadoras, provavelmente na Bahia, sendo que quarenta anos após o descobrimento já existiam árvores espalhadas pela costa litorânea. Encontrando no país melhores condições para vegetar e produzir do que nas próprias regiões de origem, essas frutas se expandiram por todo o território brasileiro. (RODRIGUES

e VIEGAS, 1980a).

Desde seu surgimento até os dias atuais, a produção e posterior industrialização dos produtos cítricos têm se expandido grandemente, fazendo deste grupo de frutas o mais importante do mundo em valor.

2.2 - CLASSIFICAÇÃO

A classificação botânica das plantas cítricas é difícil devido a sua origem muito antiga, de seu cultivo amplamente disseminado e da existência de numerosos híbridos e variedades. As árvores de frutas cítricas são membros da família *Rutaceae* do gênero *Citrus*, *Poncirus*, *Fortunella*, *Microcitrus*, *Eremocitrus* e *Clymania*. A fruta produzida é uma baga, conhecida como hesperídio. Apenas três dos seis gêneros, *Citrus*, *Poncirus* e *Fortunella* têm importância comercial. (RAMANA e colaboradores, 1981).

A árvore de *Citrus* é unifoliolada e de folhas perenes, sendo que oito de dezesseis espécies desse gênero produzem frutos comestíveis.

Poncirus é uma árvore decídua, trifoliolada, cujos frutos não são comestíveis pois contém um óleo de sabor amargo. É usada apenas como "cavalo" para enxerto pois é resistente ao frio.

Fortunella é uma árvore unifoliolada, de folhas perenes, que produz frutos comestíveis pequenos.

Os taxonomistas classificaram o gênero *Citrus* de várias maneiras. O sistema de SWINGLE e REECE, (citado por RAMANA e colaboradores, 1981) é o mais correto de acordo com o princípio biológico da taxonomia sendo amplamente aceito, não obstante com

reservas, como o real conceito de classificação de Citrus. Ele inclui todas as espécies comerciais do gênero, e também o grupo "papeda" que é de frutos não comestíveis e existe no estado selvagem.

Sabe-se que uma certa confusão taxonômica existe com o gênero Citrus. A principal razão disso é a frequente mutação, poliembrionia e hibridação inter e intragenérica. A validade em se considerar a laranja doce como espécie ainda é uma questão aberta, mas existem algumas evidências para tal, baseadas em experiências com diferentes castas. Em geral, qualquer espécie altamente nucelar é suspeita de não ser uma espécie válida. (RAMANA e colaboradores, 1981).

As características do óleo essencial dos frutos e da planta fornecem informações adicionais para os estudos taxonômicos e fitogenéticos. Outras características que ajudam na identificação das espécies de Citrus e seus híbridos incluem os carotenoides; composição de ácidos graxos, triglicerídeos e ésteres de lipídeos das vesículas de suco; suas enzimas peroxidases, esterases e amilases; hidrocarbonetos de cadeia longa saturados e mono-insaturados nas vesículas de suco; enzima polifenoloxidase e fenois; padrão das folhas e flavonoides (RAMANA e colaboradores, 1981).

As informações químicas e taxonômicas ainda são escassas e há necessidade de trabalhos complementares que conduzirão a um sistema de classificação consensual baseado em afinidades naturais. Porém até que sejam evidenciadas essas informações, os sistemas hoje existentes podem ser usados. Uma adaptação dos sistemas de SWINGLE e REECE e de HODGSON (citado por RAMANA e colaboradores, 1981) está listada na tabela 1.

Tabela 1 - Classificação dos frutos cítricos

NOME BOTÂNICO	NOME GENÉRICO	GRUPO VARIETAL	ANO	PROVÁVEL HABITAT NATIVO
<i>C. sinensis</i> Osbeck	Laranja Doce	-Lar. Normais -Lar. Umbigo -Lar. Sangue -Lar. Baixa acidez	1757	China
<i>C. aurantium</i> L.	Laranjas ácidas ou amargas	-Lar. Amarga (Sevilla) -Lar. Doce-Amarga	1753	China
<i>C. reticulata</i> Blanco	Mandarin	-Mandarins Comuns Tangerinas -Mandarins Satsuma (<i>C. unshiu</i>) -Mandarins Mediterrâneo (<i>C. deliciosa</i>)	1837	China
<i>C. paradisi</i> Macf.	Grapefruit	-Grapefruit de polpa clara -Grapefruit de polpa vermelha	1930	-
<i>C. grandis</i> Osbeck	Pomelo ou "Shaddock"	-Pomelos comuns -Pomelos pigmentados -Pomelos de baixa acidez	1765	China
<i>C. limon</i> (L) Burm. f.	Limão	-Limões ácidos -Limões de baixa acidez	1766	China
<i>C. aurantifolia</i> Christm.	Lima	-Limas ácidas grandes e peq. -Limas de baixa acidez	1913	Malasia
<i>C. medica</i> L.	Citron	-Citron ácido -Citron de baixa acidez	1753	India
<i>C. indica</i> Tan.	Lar. Indiana selvagem		1931	India
<i>C. macrocarpa</i> Mont.	Papeda Maleisiana		1860	India
<i>C. ichangensis</i> Swing	Papeda Ichang		1913	China
<i>C. latipes</i> Tan.	Papeda Khasi		1928	Assam (India)

Fonte: RAMANA e colaboradores (1981).

2.3 - CITRICULTURA BRASILEIRA NO SÉCULO XX

Na região centro-sul do Brasil, mais especificamente nos estados de São Paulo e Rio de Janeiro que são grandes núcleos populacionais, a citricultura encontrou no início do século seu principal centro de desenvolvimento (RODRIGUES e VIEGAS, 1980a).

A qualidade excepcional das frutas, graças às condições climáticas, contribuiu para que se tornassem famosas as laranjas Pera e Seleta, bem como a Mexerica do Rio. Gradativamente cresciam também as plantações na Bahia, Minas Gerais e nos estados da Região Sul (RODRIGUES e VIEGAS, 1980a).

No final da segunda década já se iniciaram as exportações de laranjas frescas, principalmente para a Argentina e Uruguai. Nos anos posteriores já se exportava também para a Europa, porém durante a II guerra mundial esse importante mercado se fechou. (RODRIGUES e VIEGAS, 1980a).

Nessa época apareceu também o vírus da "tristeza" que eliminou todas as plantas enxertadas em laranjeira-azeda que correspondiam a aproximadamente 80% das árvores. A produção entrou então num longo período de estagnação até que apareceram os primeiros resultados positivos de pesquisas com plantas enxertadas em limoeiro Cravo, usando clones nucelares livres também do vírus "exocorte". (RODRIGUES e VIEGAS, 1980a).

Gradativamente ao longo das décadas de 40 e 50 houve uma recuperação dos pomares e da produção. Em 1957 houve uma nova ameaça aos laranjais pela doença "cancro cítrico", que exigiu uma grande mobilização para seu controle, cuidados que se fazem necessários até hoje. (RODRIGUES e VIEGAS, 1980a).

A primeira planta moderna de processamento de laranjas foi instalada no estado de São Paulo em 1962 na cidade de Bebedouro. Esta planta foi construída em 127 dias, como consequência de uma forte geada no inverno de 1962/63 na Flórida, Estados Unidos, que causou enormes prejuízos aos laranjais daquele estado, maior produtor de suco concentrado congelado.

Houve uma grande alta nos preços do produto no mercado internacional, incentivando industriais americanos a instalar uma planta em solo brasileiro. (RODRIGUES e VIEGAS, 1980a).

Outras indústrias surgiram no estado de São Paulo nos dez anos seguintes, tornando o Brasil o maior exportador mundial de suco concentrado de laranja. O clima excepcional do estado e o baixo custo das terras e mão-de-obra, foram as razões básicas desse aumento.

Uma árvore no estado de São Paulo pode produzir em dezoito meses e a produção de uma caixa (40,8 Kg de laranjas) por árvore pode ser atingida no quarto ano (REED, 1977).

2.4 - VARIEDADES DE CITRUS PRODUZIDAS NO BRASIL

Os frutos cítricos podem crescer em todo o território brasileiro, sendo que as laranjas e tangerinas dominam a produção comercial. O estado de São Paulo produz aproximadamente 86% do total e processa 95% de todas essas frutas. Nos outros estados a produção destina-se basicamente aos mercados locais de frutas frescas. (RODRIGUES e VIEGAS, 1980a).

A figura 1 mostra as principais áreas de produção no Brasil e no estado de São Paulo.



Figura 1 - Principais áreas de produção de laranjas no Brasil e no estado de São Paulo
Fontes: RODRIGUES e VIEGAS (1980a) e FORTUNA (1991)

VARIETADES (RAMANA e colaboradores, 1981)

LARANJAS DE INICIO DE SAFRA - Laranjas Baiana, Baianinha, Barão e Hamlin são vendidas frescas. As Hamlin fazem parte do volume processado no início da safra, porém produzem suco de qualidade inferior, com pouca aceitação no mercado, devido à sua coloração fraca.

LARANJAS DE MEIO DE SAFRA - Representam a maior parte da matéria-prima utilizada para a produção de suco concentrado. São Pera Rio e Pera Coroa. Produzem suco de alta qualidade.

LARANJAS DE FIM DE SAFRA - São basicamente as laranjas Pera Natal e Valência. São muito populares no mercado de frutas frescas e também usadas pela indústria de processamento.

TANGERINAS - Cravo, Ponkan e Murcote são as principais variedades consumidas no mercado. Uma vez que as tangerinas produzem um suco fortemente colorido e são as primeiras a amadurecer, uma parte da produção destina-se também para a indústria de sucos concentrados.

GRAPEFRUIT - A variedade mais cultivada é a Marsh sem sementes. As rosadas e as Duncan são relativamente escassas. Até a presente data estas variedades ainda não apresentam uma posição de destaque na citricultura nacional.

LIMAS ACIDAS - Lima Taiti, lima Galega (popularmente conhecidos como limão Taiti e limão Galego), e lima Mexicana crescem no Brasil. A maior parte é destinada ao mercado de frutas frescas.

LIMÕES - Limão Siciliano, limão Eureka também crescem e são comercializados no Brasil.

LIMAS DOCES - Lima da Pérsia e Pira são os tipos mais cultivados e vendidos no comércio local.

2.5- PRODUÇÃO DE SUCO DE LARANJA CONCENTRADO

2.5.1 - MATÉRIA-PRIMA

O custo da matéria-prima corresponde a aproximadamente 80% do custo inicial e a qualidade do produto está intimamente relacionada com a qualidade da fruta (RODRIGUES e VIEGAS, 1980b).

As laranjas são colhidas quando seu suco apresenta uma relação Brix/Acidez aceitável pois, à medida em que as frutas amadurecem esta relação aumenta, sendo que o menor rendimento de extração economicamente viável para a indústria é quando este valor é de 10,0:1 e o valor ótimo oscila entre 20,0:1 e 25,0:1 (MORETTI, 1989).

As frutas devem ser sãs, de bom aspecto exterior, apresentar maturação e tamanho uniformes e estarem limpas. O diâmetro das laranjas deve estar entre seis e dez centímetros para apresentar ótimo rendimento de extração (RODRIGUES e VIEGAS, 1980b).

2.5.2 - PROCESSAMENTO

O fluxograma de produção de suco de laranja concentrado pode ser visualizado na figura 2.

2.5.2.1 - SELEÇÃO

A seleção das laranjas é feita por inspeção visual no momento em que as frutas percorrem transportadores de roletes logo após a descarga descartando-se as que estão fora das especificações. Também nesta etapa faz-se uma coleta de amostras representativa do lote para determinar a relação Brix/acidez. As

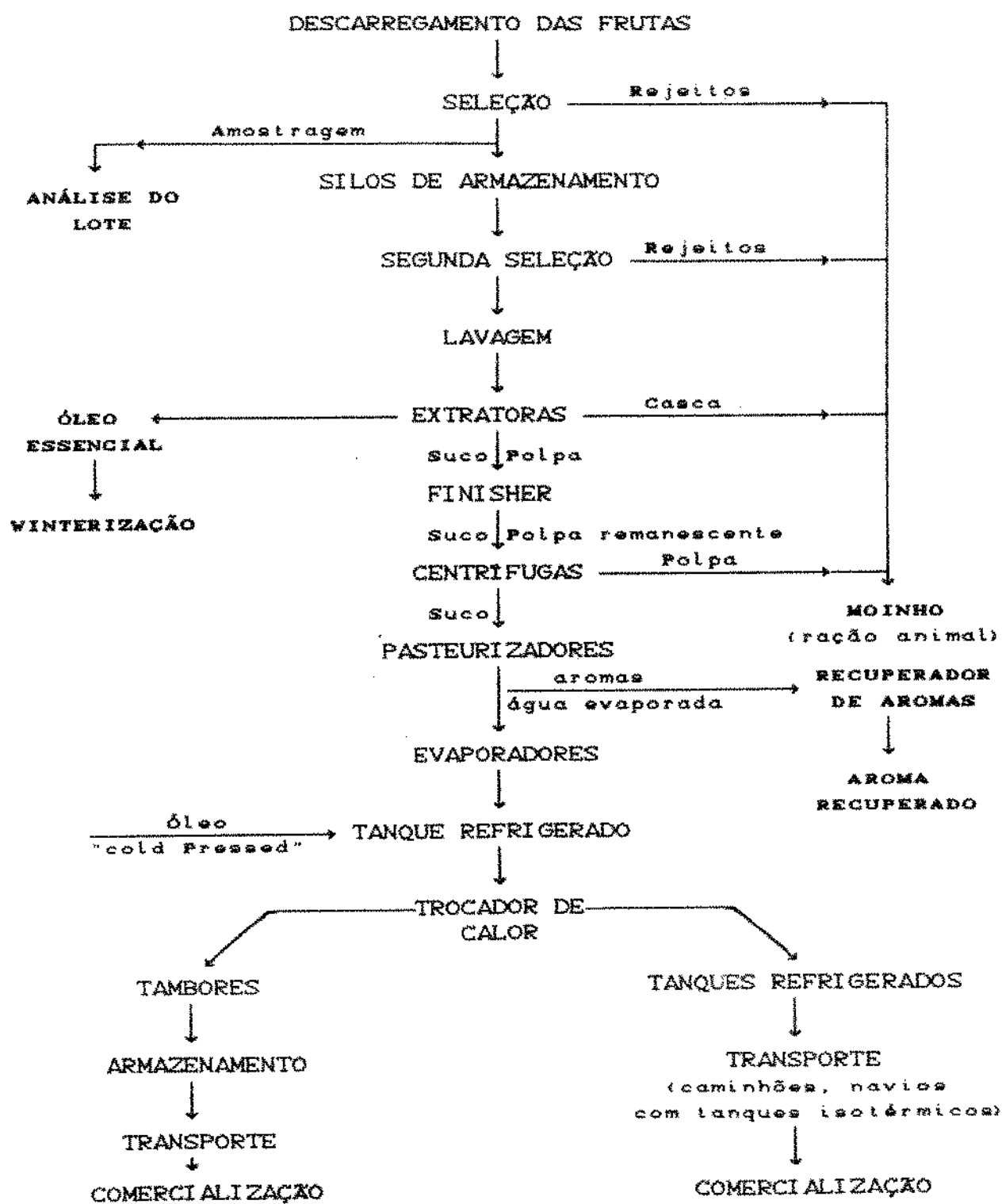


Figura 2 - Fluxograma de Produção de Suco de Laranja Concentrado
Fonte: MORETTI (1989).

frutas selecionadas são então estocadas em silos que têm, em geral, capacidade de armazenameto para vinte e quatro horas de produção (RODRIGUES e VIEGAS, 1980b).

Antes da extração ocorre uma lavagem e nova seleção para eliminar alguns defeitos então evidenciados.

2.5.2.2 - EXTRAÇÃO

A extração é a operação mais importante do processamento. As extratoras devem ser projetadas de modo a extrair um máximo de suco, sem incorporar componentes da casca, principalmente óleo essencial. Assim a atividade enzimática, o teor de hesperidina e a viscosidade são mantidos em níveis baixos. No Brasil são usadas as extratoras FMC "in line", constituídas de copos que se interpenetram, comprimindo a laranja inteira. (MORETTI, 1989).

O suco extraído corresponde a aproximadamente 50% do peso da laranja e apresenta grande quantidade de celulose em suspensão, células inteiras, rompidas e material citoplasmático, constituindo a polpa. (RODRIGUES e VIEGAS, 1980b). A tabela 2 mostra uma estimativa do rendimento de extração.

Tabela 2 - Estimativa do rendimento de extração de suco de laranja

componente	% de rendimento	
	base úmida	base seca
suco	45 - 57% (12° Brix)	5% - 7%
polpa (ração anim.)	40 - 55% (16% ST) ^a	5% - 10% (90% ST) ^a
melaço	10 - 15% (9° Brix)	1,2%-1,9% (72% ST) ^a
d-limoneno	0,05 - 0,15%	0,05 - 0,15%
óleos essenciais	0,10 - 0,25%	0,10 - 0,25%
"pulp wash"	3,0 - 4,5% (6° Brix)	0,2 - 0,3%
vesic. de suco	3,0 - 6,0% (4% ST) ^a	0,1 - 0,3%
sementes	0,1 - 1,0%	0,1 - 0,3%

a - Sólidos Totais

Fonte: CRANDALL e colaboradores (1983).

2.5.2.3 - FINISHER E CENTRÍFUGAS

As etapas seguintes consistem na passagem do suco através do "finisher" para reduzir seu teor de polpa até cerca de 8%, seguindo então para centrífugas em série que promovem uma nova redução no teor de polpa para 8% a 2% , dependendo do comprador (MORETTI, 1989).

2.5.2.4 - TRATAMENTO TÉRMICO E CONCENTRAÇÃO

Desde a extração, o suco é mantido à temperatura ambiente e, desta forma, está sujeito a ação enzimática e de microorganismos. Assim faz-se um tratamento térmico visando a inativação das enzimas e destruição dos microorganismos que podem alterar a qualidade do produto (MORETTI, 1989).

Entre as enzimas, a mais resistente ao tratamento térmico é a pectinesterase, que é tida como responsável pela desestabilização do sistema coloidal do suco. Estudos comprovaram que nas condições de inativação da pectinesterase, os microorganismos reponsáveis pela degradação do suco são destruídos (RODRIGUES e VIEGAS, 1980b). ATKINS e colaboradores (1958) e KEW e colaboradores (1957); citados por BERRY e VELDHUIS, (1977), observaram que o aquecimento até 71°C previnía a fermentação do suco, mas que temperaturas entre 86°C e 99°C eram requeridas para estabilizar o sistema coloidal.

Comercialmente o suco é aquecido rapidamente a aproximadamente 90°C. A temperatura exata depende do equipamento em uso e do fluxo de suco, sendo que o tempo de retenção varia entre 5 e 45 segundos. Também o tratamento deve ser mais intenso quanto maior for a atividade de pectinesterase presente, o pH e o teor de polpa. Como em escala comercial o suco de diferentes variedades é misturado, não é possível ajustar continuamente a temperatura de pasteurização de acordo com a variedade processada, assim, de acordo com EAGERMAN e ROUSE (1976), as condições de

pasteurização do suco de laranjas Valência são recomendadas para todas as variedades de suco de laranja.

Como o tratamento térmico para a inativação da pectinesterase é um dos principais pontos de enfoque deste trabalho, este assunto será abordado mais detalhadamente nos próximos itens.

O pasteurizador consiste de um trocador de calor, geralmente tubular, onde se obtém um fluxo turbulento de suco, para evitar o sobreaquecimento local.

Após a passagem por este equipamento, o suco vai para uma câmara de efeito "flash", onde uma parte da água evapora, juntamente com a maioria dos aromas. O suco segue para a linha de evaporadores, e a água evaporada, para o recuperador de aromas (MORETTI, 1989).

Para a concentração de suco de laranja foram desenvolvidos vários equipamentos, sendo que no Brasil usam-se evaporadores a vácuo de múltiplo efeito tipo "TASTE" (Temperature Accelerated Short Time Evaporator). Esses evaporadores têm cinco ou mais efeitos, com vários estágios em cada efeito, além de um resfriador "flash". Eles permitem obter um produto de alta qualidade com menor consumo de energia, portanto a preços mais baixos. (RODRIGUES e VIEGAS, 1980b).

O suco passa pelo evaporador tipo TASTE em até cinco minutos, mantendo suas características mais próximas do suco recém extraído do que em outros evaporadores que trabalham a baixas temperaturas e têm um tempo de retenção de até uma hora. O vácuo é superior a 27 pol.Hg no último efeito e o consumo de vapor é de aproximadamente 1 Kg para 4,5 Kg de água evaporada.

A tabela 3 mostra as condições aproximadas de operação de um evaporador de 29.500 kg/h de água evaporada.

Tabela 3 - Condições aproximadas de evaporação de um evaporador "TASTE" de 7 efeitos para concentração de suco de laranja.

Efeito	Produto (Kg)	Temp. (°C)	Concentr. (°Brix)
Alimentação	36.000	21	12
1	34.000	40	13
2	27.000	98	18
3	18.000	88	33
4	11.000	77	40
5	9.000	63	48
6	8.000	46	56
7	7.000	40	63
Flash	6.800	18	65

Fonte: BERRY e VELDHUIS (1977).

2.5.2.5 - RESFRIAMENTO E ARMAZENAMENTO

O concentrado sai dos evaporadores a 65°Brix e é coletado em um tanque refrigerado, equipado com agitadores de baixa velocidade. Uma vez completada a capacidade do tanque tem-se uma batelada, ou seja, um lote de produto. A esse lote pode-se adicionar uma certa quantidade de óleo "cold pressed" que varia em torno de 0,05%, dependendo do cliente (MORETTI, 1989).

Também nesta etapa são feitas análises de Brix, acidez, relação Brix/acidez, teor de polpa, cor, sabor, defeitos e análises microbiológicas.

O suco destinado a exportação é normalmente concentrado a 65°Brix, pois acima dessa concentração o aumento da viscosidade reduz excessivamente a eficiência dos evaporadores.

Após as análises o suco é bombeado a um trocador de calor de superfície raspada ("rotator"), onde é resfriado até -8°C e bombeado a tanques de armazenamento a baixa temperatura (aproximadamente -25°C) mantidos em grandes câmaras até que sejam transportados por caminhões a -12°C com tanques isotérmicos para comercialização (MORETTI, 1989).

Alternativamente o suco pode ser acondicionado em tambores. As embalagens para o produto a ser exportado são sacos duplos de polietileno, colocados no interior de um tambor metálico de 200 litros. Esses tambores devem ser numerados e indicar o peso bruto, peso líquido, número do "batch", relação Brix/acidez, teor de polpa, além da marca do fabricante. Os tambores são paletizados e conduzidos a câmaras frigoríficas a -25°C para estocagem e posterior comercialização. (RODRIGUES e VIEGAS, 1980b).

2.6 - COMERCIALIZAÇÃO

O Brasil e os Estados Unidos são os dois maiores produtores mundiais de laranjas, alternando suas posições de primeiro lugar nos últimos anos, de acordo com a safra. A expectativa para a próxima safra é a de uma produção brasileira de 240 milhões de caixas de laranja contra 136 milhões de caixas colhidas no Estados Unidos. (GRANATO, 1991).

Devido a quebras sucessivas nas safras americanas por geadas que dizimaram os laranjais da Flórida em 1977 e 1983, o mercado americano foi aberto para o suco brasileiro (GRANATO, 1991), colocando o setor na linha de frente das exportações brasileiras, gerando cifras ao redor de um bilhão de dólares.

A figura 3 mostra o crescimento na exportação de suco de laranja concentrado nas últimas três décadas.

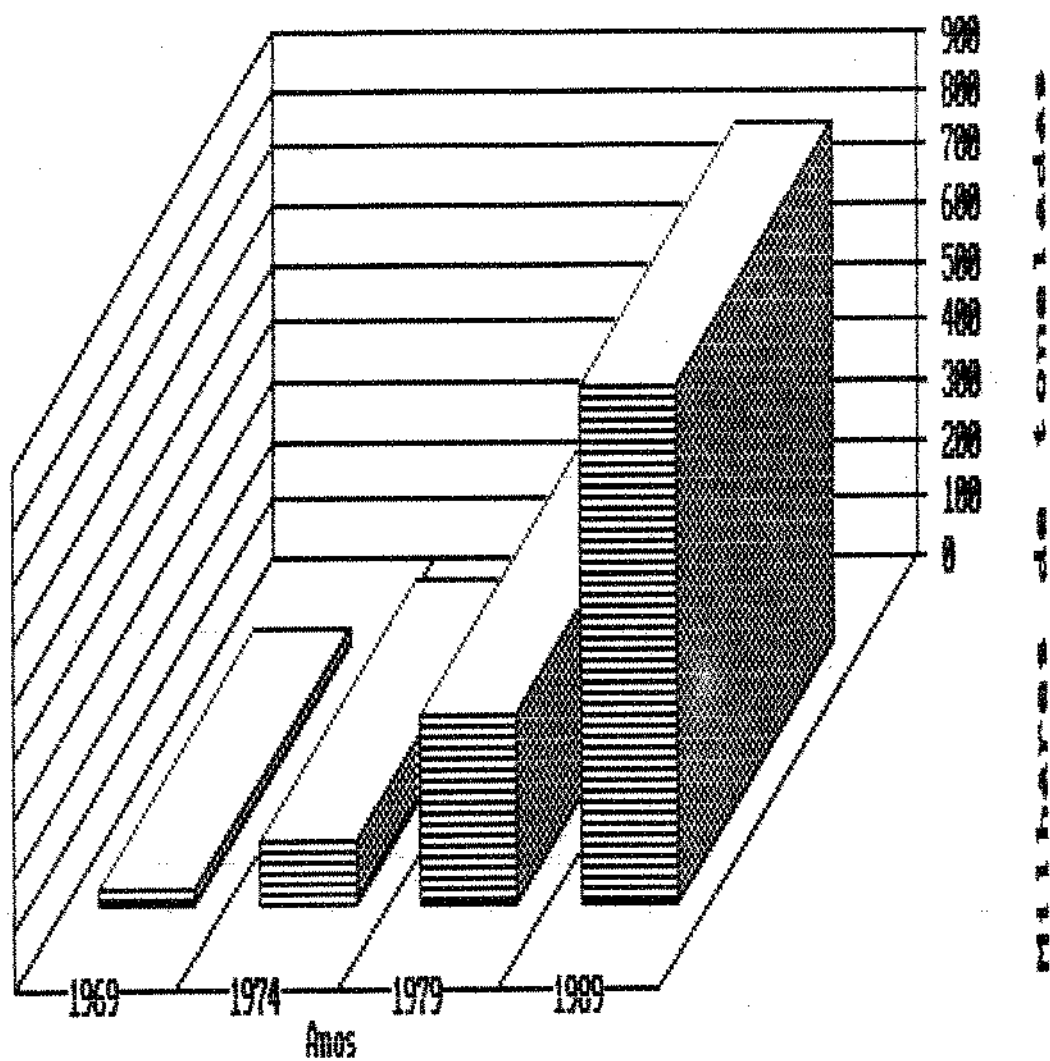


Figura 3 - Exportação Brasileira de suco de laranja concentrado
Fonte: Abrassucos (1991).

Na safra de 1991 este cenário modificou-se um pouco, principalmente pela modificação dos preços, regidos pela bolsa de New York. A cotação da laranja vinha caindo no mercado internacional e os exportadores já estavam conformados em receber US\$970,00 por tonelada de suco, um dos preços mais baixos dos últimos anos. (ANÔNIMO, 1991).

Porém a recuperação dos preços começou em outubro, por um erro de cálculo dos produtores de laranja americanos que esperavam uma safra recorde de 180 milhões de caixas. Apesar de não ter ocorrido qualquer fenômeno climático, constatou-se que o número inicial da produção foi superestimado. A safra americana para 1991/92 será de 136 milhões de caixas, segundo o Departamento de Agricultura do Estado da Flórida. Como resultado entre outubro e novembro os preços tiveram uma alta de 70%, chegando a US\$1650,00 (FORTUNA, 1991).

O problema é a dependência que o Brasil tem em relação ao mercado americano e suas expectativas. De toda a produção brasileira, apenas 2% é consumida no país. Todo o restante é exportado, principalmente para os Estados Unidos. Mesmo nos anos onde tudo corre bem na Flórida, há mercado para o produto brasileiro. O que varia é o preço. Assim, corre-se o risco de que nos próximos anos as dificuldades voltem a ocorrer. (ANÔNIMO, 1991).

Por um lado, os americanos estão transferindo seus pomares da Flórida para regiões menos sujeitas a geadas (BRANCO, 1991). A se confirmarem as previsões, haverá uma necessidade cada vez menor de suco importado, passando de 22,8% do total das vendas na safra 1991/92 para 8,1% na safra dos anos 2000/2001 (tabela 4).

Por outro lado existe uma sobretaxa alfandegária de US\$492,00 por tonelada de suco importado pelos Estados Unidos,

aliada a uma política cambial brasileira, que acaba por inibir as receitas em dólar, quando as cotações internacionais caem abaixo de determinados patamares (BRANCO, 1991).

Tabela 4 - Estimativa das importações de suco de laranja pelos Estados Unidos.

SAFRA	VENDAS DE SUCO DE LARANJA NOS EST. UNIDOS	PRODUÇÃO DE SUCO DE LARANJA PELOS EST. UNIDOS	NECESSIDADE DE IMPORTAÇÃO	
	-----Milhões de litros-----			% das vendas
1991/92	5190	3990	1200	22,8
1992/93	5353	4293	1060	19,4
1993/94	5512	4573	939	16,6
1994/95	5651	4826	825	14,2
1995/96	5765	5038	727	12,2
1996/97	5879	5269	610	9,9
1997/98	5973	5432	541	8,6
1998/99	6060	5572	488	7,6
1999/00	6114	5712	402	6,5
2000/01	6216	5879	337	6,1

Fonte: ABRASSUCOS (1991)

As figuras 4 e 5 mostram o volume comercializado de suco de laranja concentrado, e a receita gerada pelo setor nas últimas três safras.

Apesar da instabilidade do mercado o setor continua atraindo para novos investimentos, grandes grupos privados como o Votorantim e o Unibanco, além de várias pequenas empresas e cooperativas. Várias razões explicam este fato, sendo que a principal delas é o aumento das importações do suco brasileiro por outros mercados, como o europeu, o japonês e o do sudeste asiático (BRANCO, 1991). A tabela 5 mostra o destino do suco concentrado brasileiro nos últimos cinco anos.

Atualmente o mercado é dominado por duas grandes empresas, Cutrale e Citrosuco, que juntas controlam mais de 50% do

volume das exportações. A tabela 6 relaciona as principais empresas exportadoras no ano de 1990 (ABRASSUCOS, 1991).

Tabela 5 - Evolução das exportações brasileiras de suco concentrado de laranja por mercado comprador - em %

Ano	ESTADOS UNIDOS	CANADÁ	EUROPA	OUTROS
1986	51,3	5,2	38,5	5,0
1987	43,4	7,9	45,7	3,0
1988	38,8	6,6	49,8	4,8
1989	37,5	6,8	45,2	10,5
1990	39,4	4,7	48,3	7,7

Fonte: ABRASSUCOS (1991)

Tabela 6 - Maiores empresas brasileiras exportadoras de suco concentrado em 1990 - em %.

EMPRESA	(%)
Cutrale	29,0
Citrosuco	25,1
Frutesp	13,5
Cargill	9,3
Montecitrus	6,4
Frutropic	5,8
Outros	10,9

Fonte: ABRASSUCOS (1991).

Porém com a chegada de novos concorrentes a disputa se tornará mais acirrada. A Citrovita do Grupo Votorantim está investindo US\$200 milhões em duas fábricas de suco de laranja. A primeira, já em operação desde julho de 1991 com parte de sua capacidade, tem capacidade máxima planejada para produzir 132.000 toneladas de suco por ano. A segunda, em Itapetininga, terá capacidade de produzir 75.000 toneladas de suco por ano (BRANCO, 1991).

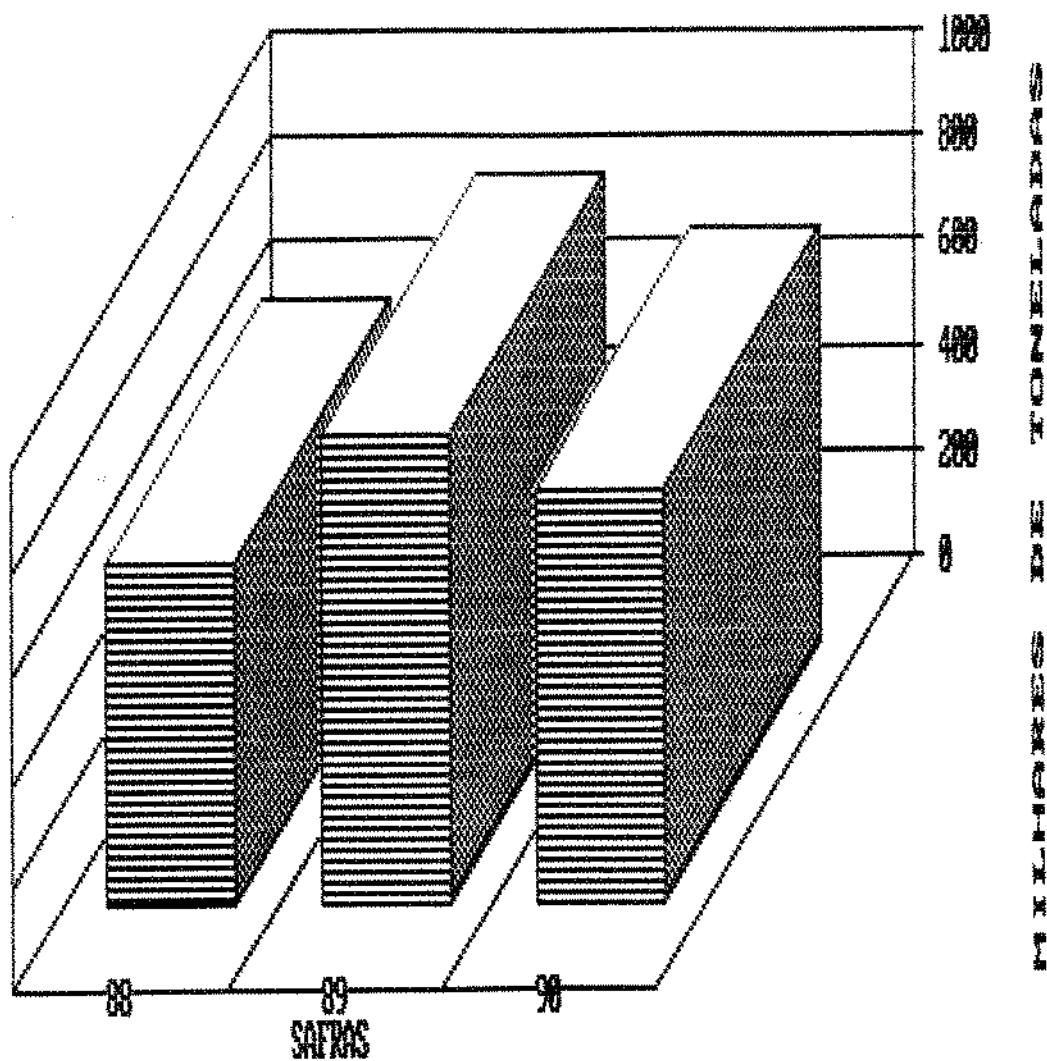


Figura 4 - Volume de exportação brasileira de suco de laranja concentrado

Fonte: ABRASSUCOS (1991).

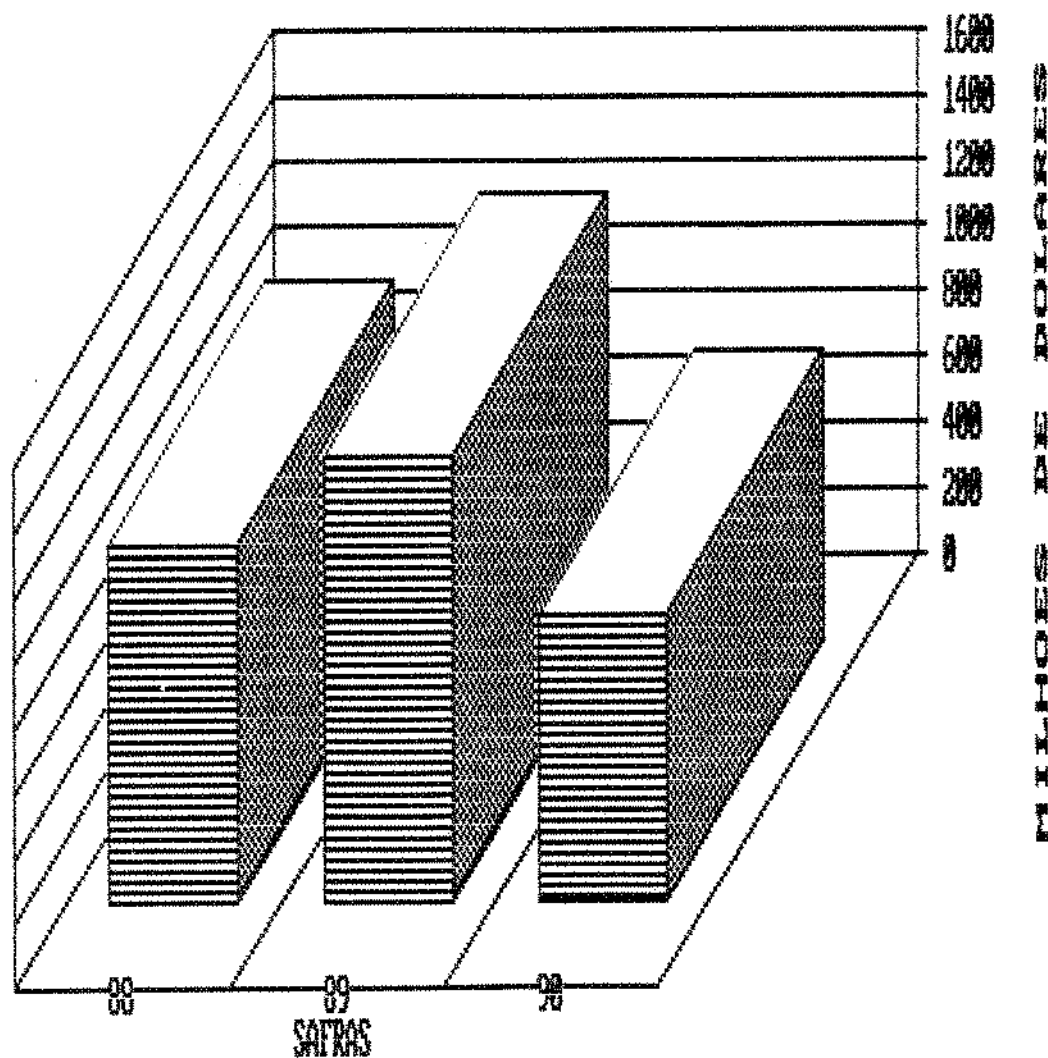


Figura 5 - Receita (em dólares americanos) das exportações brasileiras de suco de laranja concentrado.

Fonte: ABRASSUCOS (1991).

A Lins Citrus, do grupo Garavelo, começará a operar em 1993 com capacidade inicial para processar 30 milhões de caixas de laranjas. Também a Cambuhy Citrus do grupo Moreira Salles está construindo em Matão uma unidade que deverá operar a partir de maio de 1992, com capacidade de 11 milhões de caixas de laranjas (BRANCO, 1991).

Se haverá espaço para todos no mercado é uma questão aberta, porém com os problemas impostos pelo mercado internacional e o aumento da concorrência, o investimento na qualidade do produto, tanto na melhoria da matéria-prima, como na tecnologia de produção torna-se imperativo (ANÔNIMO, 1991).

2.7 - COMPOSIÇÃO DA LARANJA

2.7.1 - ESTRUTURA DA FRUTA

Todas as frutas cítricas são estruturalmente similares, exceto em tamanho, forma e peso. O corte transversal de uma laranja é mostrado na figura 6 e a descrição a seguir dos principais elementos que a compõe foi feita por COOK (1983).

A camada externa é uma fina cutícula que envolve uma segunda camada chamada flavedo, cuja cor varia de verde a alaranjada, contendo numerosas glândulas de óleo essencial aromático.

Abaixo do flavedo está a camada albedo, composta de um tecido esponjoso e esbranquiçado, que varia em espessura de acordo com a variedade da fruta. É rica em materiais pécticos e alguns compostos amargos.

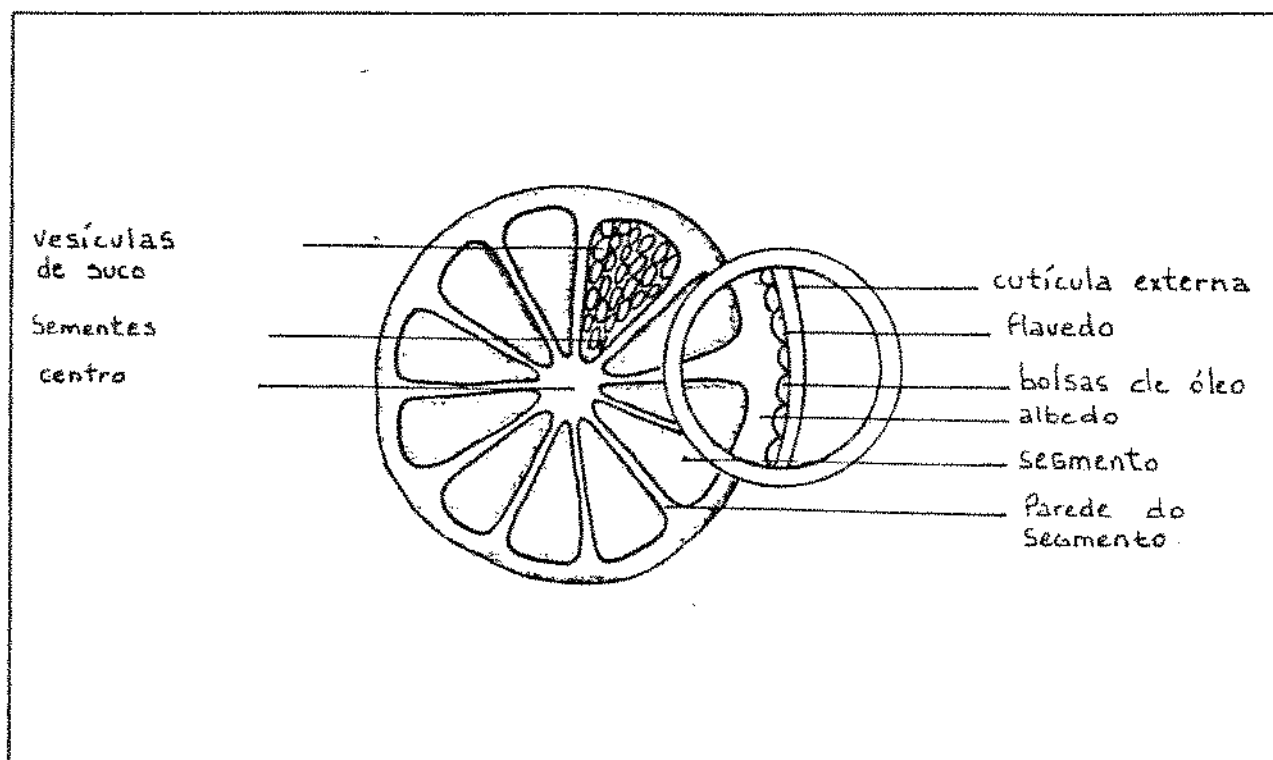


Figura 6 - Corte transversal da laranja.

Fonte: COOK (1983).

A polpa da fruta consiste de segmentos chamados gomos que contém as células armazenadoras de suco. Essas células ou vesículas são mantidas por uma epiderme que se rompe facilmente, liberando o suco.

Dentro dos gomos também se encontram as sementes, do lado próximo ao centro da fruta. Elas variam em forma, número e tamanho, dependendo da variedade.

O centro é composto por um tecido esponjoso similar ao albedo.

A composição, além de ser influenciada pela variedade, também sofre influência do clima, altitude, adubação, tipo de cavalo usado no enxerto, tratos culturais e estágio de maturação

(RODRIGUES e VIEGAS, 1980b).

Tabela 7 - Composição percentual da laranja

constituintes	%
suco	40 - 50
flavado	8 - 10
albedo	15 - 30
polpa e membrana	20 - 30
semente	0 - 04

Fonte: RODRIGUES e VIEGAS (1980b)

2.7.2 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA

A composição química da laranja é bastante complexa. Uma análise da fruta inteira não é de muita utilidade, exceto para estudos fisiológicos, pois o suco e a polpa são utilizados separadamente. A tabela 8 mostra a composição química aproximada percentual da laranja (RODRIGUES e VIEGAS, 1980b).

As variações encontradas na composição química são devidas aos mesmos fatores que influenciam sua composição estrutural.

Tabela 8 - Composição química da laranja

Constituintes	% (B. U.*)
Água	86 - 92
Açúcares totais	5 - 8
Pectina	1 - 2
Comp. nitrogenados	0,7 - 0,8
Lípideos	0,2 - 0,5
Óleo essencial	0,2 - 0,5
Minerais	0,5 - 0,9

* - Base Úmida

Fonte : RODRIGUES e VIEGAS (1980b).

II.7.3 - AÇÚCARES

A doçura do suco das frutas cítricas é devida à presença dos açúcares sacarose, frutose e glucose. Em laranjas Valência da Flórida esses açúcares foram encontrados na proporção de 2:2:1 respectivamente (CURL e VELDHUIS, 1948 - cit. por Mc CREADY, 1977).

O teor de açúcares totais encontrado em frutas cítricas por COOK, (1983), variou de 1% em alguns limões e limas e, chegando a até 14 % em algumas laranjas.

Dentre os fatores que normalmente afetam a composição química, a maturidade é a variável que mais influi no teor de açúcares. A tabela 9 apresenta um estudo feito por TING e ATTAWAY, (1971, citado por Mc CREADY, 1977) que evidencia a mudança na composição de açúcares com a maturidade da fruta (laranjas Valência).

O autor observa que a variedade estudada acumula açúcares, principalmente sacarose.

Tabela 9 - Mudanças sazonais na composição de açúcares em suco de laranjas Valência.

Dia da colheita	g/100 ml de suco			
	Glucose	Frutose	Sacarose	Açúcares totais
17 de fev.	1.74	2.44	4.31	8.49
29 de mar.	1.97	2.46	5.04	9.47
22 de abr.	2.29	2.55	4.95	9.79
25 de mai.	2.13	2.49	5.13	9.75

Fonte: Adaptado de TING e ATTAWAY (1971).

2.7.4 - ÁCIDOS ORGÂNICOS

Os ácidos orgânicos constituem até 10 % dos sólidos solúveis em suco de laranja. A acidez total é crítica para seu sabor e consequente aceitação do produto por parte do consumidor.

O teor de ácidos, medido por titulação, é outro índice importante para determinar o estágio de maturação. A relação entre o teor de sólidos solúveis, medido em graus Brix, e o teor de ácidos tituláveis é o indicador utilizado para determinar o estágio de maturação. A razão pode variar entre 6 e 20, sendo ideal a faixa compreendida entre 11 e 14. A acidez do suco (pH 3,5 a 4,0) retarda o crescimento dos microorganismos, facilitando a sua conservação (RODRIGUES e VIEGAS, 1980b).

Ácido cítrico é o principal ácido encontrado em suco de laranja, que apresenta também menores quantidades de ácido málico. Ácidos malônico e succínico também foram identificados (VANDERCOOK, 1977).

Sabe-se que a acidez nas laranjas diminui quando a fruta amadurece. Foi demonstrado que isso é devido principalmente a uma perda de ácido cítrico, enquanto que o ácido málico permanece relativamente constante (Di GIACONO e De LEO, 1973 - citados por VANDERCOOK, 1977).

2.7.5 - PECTINA

A palavra "pectina" é um termo genérico amplamente utilizado para denominar as substâncias pécticas. Essas substâncias são usualmente designadas como carboidratos de alto peso molecular e composição complexa. Elas são o cimento do tecido da parede celular das frutas e vegetais suculentos (ROUSE, (1977).

A pectina é normalmente referida como o ingrediente que naturalmente estabiliza a turbidez dos sucos de frutas, especialmente os cítricos pois, agindo como um emulsificante ela ajuda a manter suspensão, proporcionando a densidade ótica conhecida como turbidez (COOK, 1983). Também a consistência ou "corpo" do suco é resultado da presença da pectina.

A nomenclatura das substâncias pécticas adotada oficialmente nos Estados Unidos desde abril de 1944 pela "Agricultural and Food Chemistry Division of the American Chemical Society" (KERTEZ, 1951 - citado por ROUSE, 1977) define:

- Substâncias Pécticas são carboidratos complexos que ocorrem nas plantas ou são a partir delas preparados, contendo um grande número de unidades de ácido anidrogalurônico que aparecem numa combinação em cadeia. Os grupos carboxila das unidades do ácido galaturônico podem estar parcialmente esterificados por grupos metoxila e parcialmente ou completamente neutralizados por uma ou mais bases.

- Protopectina - O termo protopectina é aplicado a substâncias insolúveis em água que ocorrem em plantas e que sobre hidrólise parcial resultam em pectina ou ácidos pectínicos.

- Ácidos Pectínicos - O termo ácidos pectínicos é usado para ácidos poligalurônicos coloidais contendo uma porção não insignificante de grupos metil éster. Em condições apropriadas são capazes de formar gel com açúcar e ácido e, se o teor de grupos metoxila for suficiente baixo, com certos ions metálicos.

- Pectina é um termo genérico que designa os ácidos pectínicos solúveis em água com variáveis graus de esterificação e graus de neutralização que são capazes de formar gel com açúcar e ácido, em

condições apropriadas.

- Ácidos Pécnicos são substâncias pécticas compostas em sua maioria de ácido poligalacturônico coloidal, essencialmente livres de grupos metil éster.

Os ácidos pectínicos são os mais úteis das substâncias pécticas pelo seu poder gelificante. Eles são comercialmente divididos em dois grupos de pectinas para obtenção de gel:

- PECTINAS DE ALTO TEOR DE GRUPOS METOXILA (acima de 7 % de grupos metoxila*), formam géis em condições apropriadas com açúcar e ácido.

- PECTINAS DE BAIXO TEOR DE GRUPOS METOXILA (de 3 % a 7 % de grupos metoxila*) formam géis estáveis com pequenas quantidades de cátions polivalentes, sem a adição de mais sólidos solúveis e ácidos.

Puro ácido péctico é composto de resíduos de ácido galacturônico, sendo que o peso equivalente calculado é 176. O peso equivalente é dependente do grau de esterificação da molécula de pectina. A tabela 9 apresenta a correlação entre o grau de esterificação, teor de metoxila e peso equivalente (ROUSE, 1977).

O peso molecular da pectina varia entre 10.000 e 400.000. A figura 7 mostra parte de uma molécula de pectina. Cada unidade de ácido galacturônico está conectada com a seguinte através de ligações α -D 1,4 glicosídicas. Alguns grupos carboxila estão esterificados com metanol, e há ligações cruzadas entre as cadeias com cálcio (ROUSE, 1977).

* - Calculado em base seca, não considerando-se também o teor de cinzas.

Tabela 10 - Relação entre o grau de esterificação, teor de metoxil e peso equivalente de ácido pectínico puro

Grau de esterificação (%)	Teor de metoxila (%)	Peso Equivalente
0	0,00	176
10	1,63	197
20	3,26	224
30	4,90	257
40	6,53	303
50	8,16	366
60	9,79	461
70	11,42	619
80	13,06	936
90	14,69	1866
100	16,32	-

Fonte: DOESBURG (1965) - citado por ROUSE (1977)

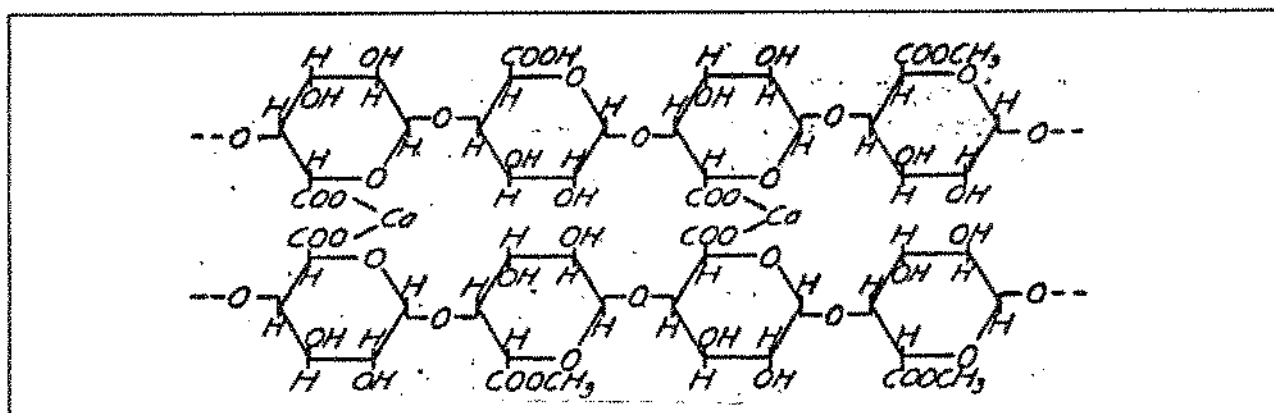


Figura 7 - Parte de uma molécula de pectina.

Fonte: ROUSE (1977)

2.7.5.1 - PECTINA NO TECIDO CELULAR

Já durante a divisão celular, as vesículas de Golgi carregam unidades de ácido galacturônico para formar uma placa celular que cresce externamente até alcançar a parede de separação. Dos dois lados dessa parede, desenvolvem-se as paredes

primárias das células filhas. A lamela média, que mantém as células juntas, é formada de uma substância insolúvel em água, consistindo de moléculas de ácido poligalacturônico interligadas por íons cálcio e magnésio (GIERSCHNER, 1981).

Em contraste com a lamela média, onde as cadeias de pectina parecem estar interligadas apenas por íons bivalentes, a parede celular primária, além das cadeias de pectina, está ligada a muitos outros constituintes (GIERSCHNER, 1981).

A figura 8 mostra um modelo proposto por GIERSCHNER, (1981) para a microestrutura da parede celular. A maneira com que estas fibrilas estão conectadas na parede primária pode ser vista no modelo proposto, que é muito útil do ponto de vista tecnológico embora não possa ser completamente generalizado.

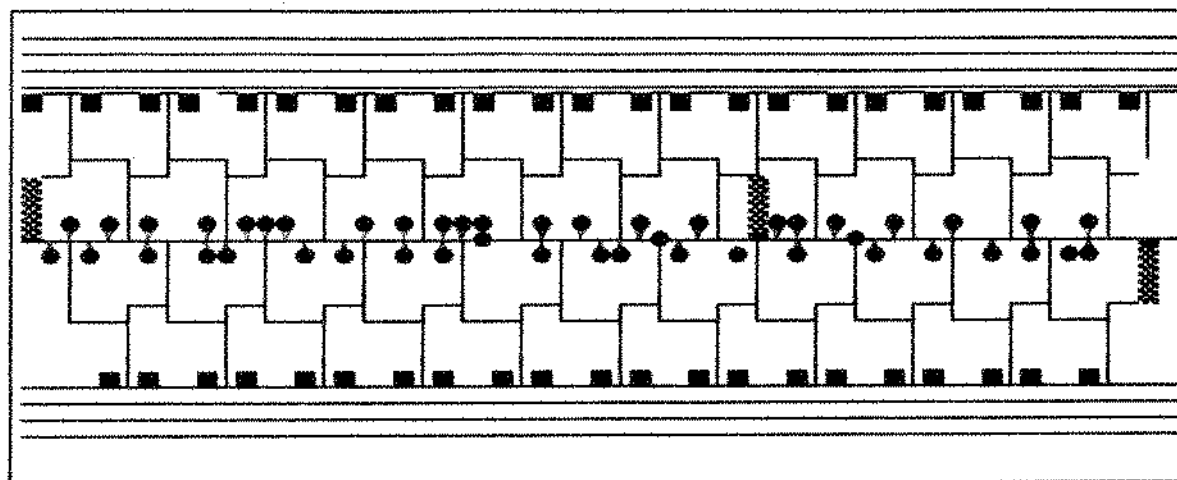
De acordo com modelo, descreve o autor, as cadeias de pectina, mais especificamente as cadeias laterais de sacarídeos neutros (arabinanas ou galactanas), estão ligadas covalentemente à hemicelulose (xiloglucanas), que está associada por pontes de hidrogênio às fibrilas de celulose.

Pelo outro lado, as cadeias de pectina estão ligadas às proteínas da parede celular por suas cadeias laterais que estão ligadas glicosidicamente aos resíduos hidroxi-propil (ou seril) da glicoproteína.

As ligações α -1,4 glicosídicas das unidades de ácido galacturônico na molécula de pectina, conferem às cadeias uma forma espiral em zigue-zague com ângulo de 120° e tendência a enrolar, e assim ligar água.

Finalmente o autor afirma que uma das características da

lamela média e da parede celular é a permeabilidade à água e a substâncias em água solúveis. Associa-se a isso o fato de importância tecnológica de que enzimas podem penetrar através da fase aquosa e destruir a lamela média e a parede primária. Da mesma forma os íons cálcio podem penetrar, causando um endurecimento.



Legenda:

- Fibrilas de celulose
- Xiloglucana
- Proteína da parede celular com tetrasacarídeos arabinosil
- Pectina
- Ramnoglacturonana
- Cadeia lateral arabinana ou galactana
- Arabinogalactana ligada a resíduo seril
- Resíduo seril na proteína da parede celular

Figura 8 - Modelo estrutural da parede celular de uma planta
Fonte: GIER SCHNER (1981).

As substâncias pécticas são geralmente consideradas heterogêneas em relação ao peso molecular, grau de esterificação, grau de acetilação, pureza relativa ao ácido galacturônico e a presença de carboidratos não uronídicos (RANGANNA e colaboradores, 1983).

A figura 9 mostra as configurações espaciais de unidades de ácido galacturônico. Os carbonos 2 e 3 da subunidade são constituídos de grupos hidroxila secundários. O carbono 5 tem uma configuração D e o carbono 6 está na forma de metil-éster.

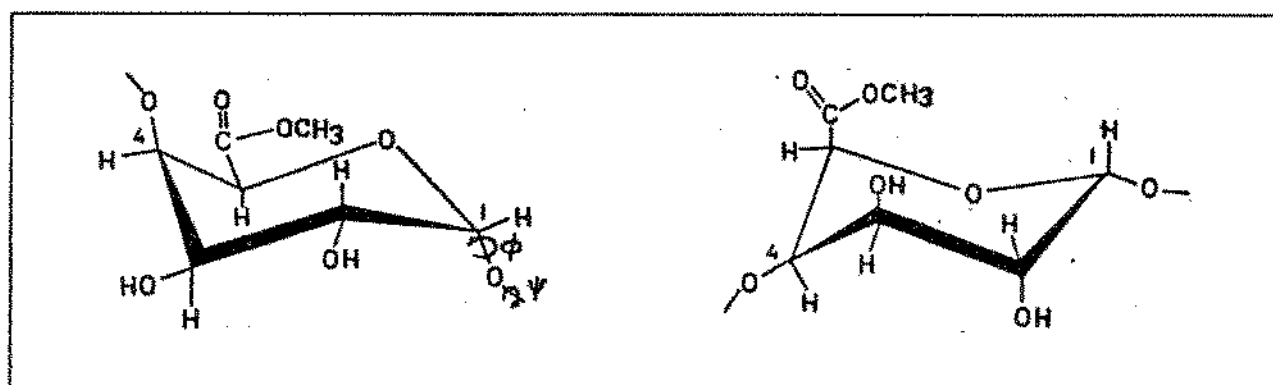


Figura 9 - Sub-unidades de ácido D-galacturônico.

Fonte: RANGANNA e colaboradores (1983).

2.7.5.2 - CARACTERÍSTICAS E PROPRIEDADES

A pectina é um colóide liófilo com carga negativa e não tem ponto isoelétrico. Assim sendo, o fator mais importante em sua estabilização é sua hidratação, e não sua carga. Sua carga pode ser neutralizada sem coagulação, mas um agente desidratante como o álcool pode causar a coagulação (ROUSE, 1977).

Em suco de laranja, que é uma solução aquosa de vários

componentes e não de apenas pectina, sua carga também torna-se importante para a estabilização do sistema coloidal (MONTGOMERY, M.W., 1992 *comunicação pessoal*).

A viscosidade de uma solução de pectina varia grandemente, dependendo da concentração, pH, sais, temperatura e tamanho das cadeias de ácido poligalacturônico. Soluções aquosas de 2% de pectina cítrica são pseudoplásticas. Com a adição de sólidos solúveis, acentuam-se grandemente as características não newtonianas (SARAVACOS, 1968 citado por ROUSE, 1977).

Por esta razão, o suco de laranja concentrado é um fluido notadamente pseudoplástico.

2.7.5.3 - MUDANÇAS NA PECTINA DURANTE A MATURAÇÃO

Durante o ciclo de maturação das frutas cítricas, a protopectina insolúvel muda para pectina e pectinatos solúveis. Já quando as frutas entram no período de senescência, esses produtos são convertidos em pectina de baixo poder gelificante e pectatos insolúveis (ROUSE, 1977).

SINCLAIR e JOLLIFE, (1961) citados por ROUSE, (1977) também reportaram mudanças sazonais na concentração de substâncias pecticas na casca e polpa em laranjas Valência da Califórnia. Com o amadurecimento das laranjas ocorria um grande aumento da pectina solúvel e total, seguido de um decréscimo gradual no fim da safra.

O amolecimento da pectina no tecido da fruta durante o amadurecimento está sem sombra de dúvida correlacionado com as mudanças na pectina. Entretanto não há até o momento explicações satisfatórias para esse fenômeno. (GIERSCHNER e ING, 1981).

2.7.6 - COMPOSTOS NITROGENADOS

Os compostos nitrogenados em frutas cítricas representam uma pequena, mas importante parte das substâncias que as compõe.

SMITH, (1963) citado por VANDERCOOK, (1977) calculou que as frutas contêm aproximadamente 50% do nitrogênio total presente na árvore de laranja. Metade do nitrogênio absorvido pela árvore, a cada ano vai, para as frutas.

A maior fração dos compostos nitrogenados é a fração de aminoácidos livres, que representam aproximadamente 70% do nitrogênio em vários sucos cítricos. O restante está na forma de proteínas, incluindo enzimas, amins fenólicas, nucleotídeos, ácidos nucleicos, fosfolipídeos, vitaminas e formas inorgânicas (VANDERCOOK, 1977).

2.7.6.1 - PROTEÍNAS E ENZIMAS

A concentração total de proteínas em frutos cítricos é pequena e poucos trabalhos têm sido feitos nesse campo. É mais provável que as proteínas presentes sejam em sua maioria enzimas. A presença de muitas enzimas foi demonstrada e caracterizada. Na tabela 11 estão listadas as enzimas presentes em citrus (VANDERCOOK, 1977).

Como o objetivo prioritário deste trabalho é a ação enzimática sobre a pectina presente em suco de laranja e suas consequências sobre a qualidade do produto, serão descritas as enzimas que atuam na pectina. Dentre elas a de maior significância para o processamento industrial de suco é a pectinesterase, que é aceita como responsável pela clarificação do suco.

Tabela II - Enzimas relatadas em citrus

NOME	REAÇÕES OU SUBSTRATO	FONTE	PROPRIEDADES
OXIDOREDUCTASES			
Álcool desidrogenase (álcool : NAD oxido- redutase)	Oxidação de álcoois na presença de NAD, séries homólogas de etanol a octanol para oxidação e de decanal a acetaldeído para redução	Vesículas de suco de laranja; 10.000 g de sobrenadante, parcialmente purificado por precipitação por (NH ₄) ₂ SO ₄ e filtração em gel	Separada de geraniol desidro- genase por precipitação por (NH ₄) ₂ SO ₄ e filtração em gel; dependente de NAD
Lactato desidrogenase	Lactato + NAD = piruvato + NADH	Em vesículas de Citrus acida inatura	pH ótimo 7,0
3-hidroxiubutiril-CoA: NAD oxidoreductase	Acetoacetyl CoA	Vesículas de suco de laranja	-----
Malato : NAD oxido- redutase	Malato + NAD = oxalato + NADH	Vesículas de suco de laranja	A velocidade de redução de oxalato é 500 vezes mais rápida que a oxidação de malato
Enzima málica [malato: NADP oxidoreductase (descarboxilante)]	Piruvato + CO ₂ + NADPH = malato + NADP	Limões Eureka e limões de baixa acidez tunisi- anos	Não isolada
Isocitrato: NADP oxido- redutase	Isocitrato + NADP = 2 cetogluta- rato + CO ₂ + NADPH	Vesículas de suco de laranja e de limões	Enzima não isolada
Glucose-6-fosfato: NADP oxidoreductase	Glucose-6-fosfato + NADP = Glu- cose-5-lactona-6-fosfato + NADPH	Vesículas de suco de laranja	Enzima não isolada
Geraniol desidrogenase (Geraniol: NADP oxido- redutase)	Oxidação reversível de geraniol para geranial em presença de NADP; nerol foi oxidado a 60 % da velocidade de geraniol	Vesículas de suco de laranja; 10.000 g de sobrenadante, parcialmente purificado por precipitação com (NH ₄) ₂ SO ₄ e filtração em gel	Oxidação máx. a pH 7,0 ; pH ótimo de redução 6,5; instá- vel abaixo de pH 5,0; inibi- da por iodo, acetamida, β-hidroxiquinolina, Zn e lí- moneno
Limonato desidrogenase (Limonato: NAD oxido- redutase)	Ácido-19-deoxilimonóico-3-metil- ester + NAD = Ácido-17-desidro- 19-deoxilimonóico-3-metilester + NADH	Albedo de laranja Navel	Não isolada

Tabela 11 - Continuação

NOME	REAÇÕES OU SUBSTRATO	FONTE	PROPRIEDADES
Formato: NAD oxido-redutase	Formato + NAD = CO_2 + NADH	Vesículas de suco de laranja	Enzima não isolada
Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase	Gliceraldeído-3-fosfato + Pi + NAD = 3-fosfo-gliceril-fosfato + NADH	Flavado de Citrus acida imatura	pH ótimo 8,5
Limoneno redutase	Limoneno + NADH = D-p-menteno + NAD	Vesículas de suco de laranja	pH ótimo 9,0
Glutamato: NAD oxidoredutase	Glutamato + NAD = alfa-cetoglutarato + NADH + NH_3	Vesículas de suco de laranja	Enzima não isolada
Ácido ascórbico	Ascorbato + O_2 = desidrascorbato	Limão imaturo, lima, "grapefruit" principalmente alta em flavado	pH ótimo 5,6; atividade inibida por sol. KCN 10^{-4} a 10^{-5} M há inibição de 50% da atividade por sol. de dietiltiocarbamato
Catalase	$2 \text{H}_2\text{O}_2 = 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$	Laranjas Shamouti	Enzima não isolada
Peroxidade	Doador de H mais peróxido de H	Flavado de limão, laranja e "grapefruit"	pH ótimo entre 6,0 e 6,6
Cinamato hidrolase	Cinamato = p-coumarato	Fatias de tecidos de "grapefruits"	Enzima não isolada
Ácido acético indole oxidase	Ácido acético indole	Laranjas Shamouti imatura	Reação a pH 6,6 Enzima não isolada
TRANSFERASES			
Acetoacetil-CoA tiolase	$2 \text{ acetil-CoA} = \text{acetoacetil-CoA} + \text{CoA}$	Vesículas de suco de laranja, maior atividade na fração precipitada por saturação com $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Enzima não isolada
Aspartato amino-transferase	Aspartato + 2-cetoglutarato = oxaloacetato + glutamato	Limões	Enzima não isolada
Alanina amino-transferase	Alanina + 2-cetoglutarato = piruvato + glutamato	Citrus acida madura	pH ótimo 7,5

Tabela 11 - Continuação

NOME	REAÇÕES OU SUBSTRATO	FONTE	PROPRIEDADES
L-fenilalanina:2-ceto-glutarato aminotransferase	Fenilpiruvato + glutamato = fenilalanina + 2-cetoglutarato	"grapefruit"	Reação ocorre a pH 8,4
Hexoquinase	Glucose + ATP = Glucose-6-fosfato + ADP	Flavado de Citrus acida imatura	pH ótimo 7,5
Fosfofrutoquinase	Frutose-6-fosfato + ATP = Frutose-1,6-difosfato	Vesículas de Citrus acida	pH ótimo 9,4
ATP:mevalonato-5-fosfotransferase	Mevalonato + ATP = 5-fosfomevanolato	Vesícula de suco de laranja	pH ótimo 6,5 ; ativada por agentes redutores, indoacetamida
ATP:5-fosfomevanolato fosfotransferase	Mevanolato-5-fosfato + ATP = mevanolato-5-pirofosfato	Vesículas de suco de laranja	pH ótimo 6,5
Fosfoglucomutase	Glucose-1,6-difosfato + glucose-1-fosfato = Glucose-1,6-difosfato + glucose-6-fosfato	Flavado de Citrus acida imatura	pH ótimo 7,5
HIDROLASES			
Esterase	Hidrolisa vários ésteres	Casca de laranja, limão e "grapefruit"	Reação a pH 6,5
Pectinesterase	Hidrolisa os polimetilésteres do ácido poligalacturônico contendo 10 ou mais unidades	Todos os citrú; associado com componentes insolúveis da fruta	Reação ocorre a pH 6,5. Inativa com metilésteres de mono, di e tri ácido galacturônico
Limocina-D-anel-lactona hidrolase	Limonoato = limonoato-D-anel lactona	Sementes de laranja	A reação de lactonização é predominante a pH 6,0 e a reação hidrolítica a pH 0,0 específica para D-anel
Acetilsterase	Hidrolisa ésteres acético e propiônico	Vários tecidos cítricos	Enzima não isolada
Fosfatase	Hidrólise de ácido fosfórico mono e diésteres e piro e meta-fosfatos	Casca de "grapefruit", limão e laranja	pH ótimo 5,0 a 6,0; Temperatura 50°C Inibida por EDTA
Amino-peptidase	Vários peptídeos	Casca de citrú	Enzima não isolada

Tabela 11 - Continuação

NOME	REAÇÕES OU SUBSTRATO	FONTE	PROPRIEDADES
Carboxipeptidase C	Cisão de terminal básico e ácido dos aminoácidos a partir do terminal carboxi de peptídeos	Flavado de laranja, limão e "grapefruit" Maior em limões imaturos	pH ótimo 5,3 a 5,7, rapidamente inativada a 60°C; inibida por diisopropilfluorofosfato mas não por EDTA
LIASES			
Piruvato descarboxilase	Piruvato = Acetaldeído + CO ₂	Vesículas de suco de laranja	Enzima não isolada
Glutamato descarboxilase	Glutamato = 4-aminobutirato + CO ₂	Flavado de limão e laranja	pH ótimo 6,5
Fosfoenolpiruvato carboxilase	Fosfoenolpiruvato + CO ₂ = Oxaloacetato + Pi	Homogenização de flavado e vesículas de suco de laranja e limão	Enzima não isolada
ATP-5-pirofosfovalonato	Mevalonato-5-pirofosfato = Isopentenilpirofosfato + CO ₂	Vesículas de suco de laranja	Máxima descarboxilação ocorre a pH 7,0
Fosfoenolpiruvato carboxiquinase (ATP)	Fosfoenolpiruvato + CO ₂ + ADP = Oxaloacetato + ATP	Homogenização de flavado e vesículas de suco de laranja e limão	Enzima não isolada
Frutose difosfato aldolase	Frutose-1,6-difosfato = dihidroxiacetona fosfato + gliceraldeído-3-fosfato	Flavado de Citrus acida imatura	pH ótimo 8,0
Citrato oxaloacetato liase (CoA-acetilante)	Acetil CoA + oxaloacetato = citrato + CoA	Folhas e frutos de limão e de laranja	Enzima não isolada
Fenilalanina amonioliase	Fenilalanina = NH ₄ + trans-cinamato	"grapefruit"	pH ótimo 9,3
Tirosina:2-cetoglutarato aminotransferase	Tirosina + 2-cetoglutarato = p-hidroxifenilpiruvato + glutamato	"grapefruit"	Reação a pH 8,0
ISOMERASES			
Fosfohexose isomerase	Glucose-6-fosfato = frutose-6-fosfato	Flavado de Citrus acida imatura	pH ótimo 9,0
Isopentenil pirofosfato D ³ ,D ² -isomerase	Isopentenil-PP = dimetilalil-PP	Vesículas de suco de laranja	Reação a pH 7,0 e a 30°C

Tabela 11 - Continuação

NOME	REAÇÕES DO SUBSTRATO	FONTE	PROPRIEDADES
Chalcona-flavanona isomerase	Flavanona = Chalcona	"grapefruit" imatura	Reação a pH 8,0 e a 25,5°C
LIGASES			
Acetil CoA sintetase	Acetato + CoA = Acetil CoA	Vesículas de suco de laranja	(NH ₄) ₂ SO ₄ até saturação
Glutamina sintetase	ATP + glutamato + NH ₃ = Glutamina + ADP + Pi	Citrus acida madura	pH ótimo 7,5
Asparagina sintetase	Aspartato + NH ₃ = Asparagina	Citrus acida madura	pH ótimo 7,0
Ácido ascórbico sintetase	D-glucurrolactona = Ascorbato	Flavedo e vesículas de Citrus acida imatura	pH ótimo 7,0

2.7.6.2 - ENZIMAS QUE ATUAM NA PECTINA

Enzimas que agem sobre a pectina estão distribuídas entre plantas e microorganismos, porém não estão presentes em animais. ROMBOUTS e PILNIK (1972, 1978) citados por SCHWIMMER, (1981) indicam três tipos de enzimas que catalizam reações sobre substâncias pécnicas:

São pectinesterases, pectina ou pectatodespolimerases que compreendem também as hidrolases e liases. As liases quebram a pectina pelo mecanismo de β -eliminação que envolve a remoção de água, em contraste com as hidrolases que adicionam água.

As especificidades enzimáticas podem ser também categorizadas, ou com outras glicano-despolimerases, ou se elas atacam ligações internas (endo) aleatoriamente, em uma extremidade, ou atacam apenas oligômeros de cadeia curta. Ao contrário de outras glicanases, há também especificidade concorrente, e também se os resíduos de ácido galacturônico estão esterificados com grupos metoxila (SCHWIMMER, 1981).

2.7.6.2.1 - PECTINESTERASE

As informações concernentes à enzima pectinesterase que serão descritas neste sub-ítem foram todas citadas por SCHWIMMER, (1981).

Pectinesterase (PE), às vezes citada como pectina metil esterase (PME) é uma enzima encontrada na parede das células e cataliza a desesterificação hidrolítica da pectina para formar pectinas parcialmente desmetoxiladas e álcool metílico.

As esterases até hoje investigadas iniciam sua ação a

partir da extremidade redutora e continuam sua ação ao longo da cadeia, deixando blocos sucessivos de resíduos de ácido galacturônico com grupos carboxila livres. A PE de tomate também age em outros pontos, preferivelmente onde há um grupo carboxila esterificado cercado por grupos carboxila livres.

De maneira genérica, e excetuando-se a possibilidade de iniciação pela extremidade da cadeia, o requerimento da PE para agir sobre a pectina, é a presença de um resíduo de ácido galacturônico com grupo carboxila livre, adjacente ao esterificado a ser hidrolisado. Algumas PE têm especificidade restrita ao fim da cadeia, iniciando pela extremidade redutora e por nenhum outro lugar (MILLER e McMILLAN, 1971 citado por SCHWIMMER, 1981).

A reação cessa abruptamente antes que todos os grupos metoxila sejam removidos, em parte devido a inibição que ocorre pelo aumento da concentração de produto (pectato) e em parte devido a repulsão dos grupos carboxila carregados negativamente. Essa repulsão pode ser superada e a inibição reduzida por uma alta concentração de sais neutros.

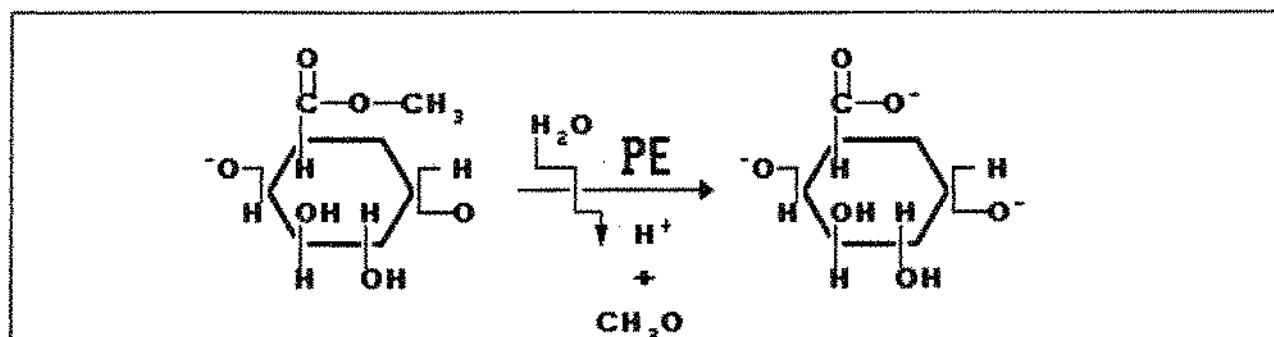
O pH ótimo para as enzimas de vegetais até hoje investigadas tende a ser na faixa de 7 a 9, ao passo que as PE isoladas de microorganismos têm uma faixa de ação mais ampla, estando o pH ótimo na faixa ácida.

Seus pesos moleculares estão ao redor de 28.000. São ativadas por NaCl ou cátions divalentes. Todas elas são efetivamente inibidas por ácidos graxos de cadeias de comprimento intermediário (acima de 50% pelo ácido mirístico).

A ação das PE também apresenta alguma consequência para a saúde, caso se leve em conta o metanol liberado.

ATIVIDADE DA PECTINESTERASE

A atividade da PE pode ser quimicamente monitorada, tanto pela análise do metanol, como pelos grupos ácidos liberados na reação:



O metanol pode ser quantificado por cromatografia gasosa (VERSTEEG e colaboradores, 1978; BARTOLOME e HOFF, 1972; KROP e colaboradores, 1974) ou por espectrofotometria (WOOD e SIDDIGN, 1971). Esses métodos têm a desvantagem de necessitarem, em alguns casos, até duas horas para análise, e também de fornecerem resultados questionáveis a atividades muito baixas, da ordem de 5×10^{-6} PEu (HOLLAND, 1976 e colaboradores).

A liberação de grupos ácidos pode ser analisada por vários métodos de titulação (KERTESZ, 1955; ROUSE e ATKINS, 1952; SOMOGY e ROMANI, 1964; MAYORRGA e ROLZ, 1971; VERSTEEG e colaboradores, 1978). Também esses métodos carecem de confiabilidade para valores de atividade de PE muito baixos, porém apresentam a vantagem de fornecer resultados rapidamente e não requerer equipamentos sofisticados para sua execução.

Uma variação dos métodos titrimétricos, utilizada pela FMC Corporation (REED e colaboradores, 1986) foi adotada neste trabalho.

ROUSE e colaboradores (1962) estudaram a atividade da PE

em diversas frações de laranjas Valência da Flórida (Estados Unidos) ao longo das safras 1959-60 e 1960-61. Também foram determinadas variações no peso, sólidos totais das frutas e relação Brix/acidez do suco. Os componentes estudados foram casca, membrana, vesículas de suco, sementes e suco.

A tabela 12 mostra os resultados obtidos. Eles afirmaram que a ordem decrescente de atividade de PE na maioria dos casos foi inicialmente nas vesículas de suco, seguindo para membrana, casca, sementes e suco e que esta atividade era, de forma genérica, menor no início da safra e maior no fim, quando a relação Brix/acidez é maior. A pectina solúvel em água manteve-se constante na casca e vesículas de suco; aumentou ligeiramente no início, mantendo-se depois constante na membrana e foi irregular durante o ciclo nas sementes.

Tabela 12 - Distribuição da atividade de PE em várias partes de laranjas Valência.

Meses	safra 1959-60					safra 1960-61				
	PEu/g sol. Totais x 1000					PEu/g sol. Totais x 1000				
	Casca	Membr.	Vesic.	Semente	Suco	Casca	Membr.	Vesic.	Semente	Suco
Dez.	41.4	36.2	219.8	3.3	3.5	26.1	35.6	199.4	5.4	1.1
Jan.	59.5	50.3	319.8	5.0	2.1	41.7	45.7	263.4	5.4	1.1
Fev.	36.9	44.2	435.3	5.0	2.1	73.7	81.7	407.5	7.1	1.0
Mar.	27.5	40.5	284.8	2.1	1.0	58.4	64.8	360.2	5.0	1.0
Abr.	45.1	43.6	290.6	3.9	1.9	51.9	70.3	319.4	3.2	0.9
Mai.	45.3	57.4	359.8	3.7	1.0	47.8	79.2	346.5	4.5	1.0
Jun.	57.9	93.1	626.2	3.8	3.6	76.6	109.0	517.1	4.7	1.1
Média	44.8	52.2	362.3	3.8	2.2	53.7	69.5	344.7	5.0	1.0

Fonte: ROUSE e colaboradores (1962)

Em um trabalho publicado posteriormente, os mesmos autores (ROUSE e colaboradores, 1964) apresentam um estudo sobre as atividades de PE em laranjas "Pineapple" da Flórida durante as safras de 1960-61 e 1961-62 (tabela 13).

Tabela 13 - Distribuição da atividade de PE em várias partes de laranjas "Pineapple".

Meses	safra 1960-61						safra 1961-62					
	PEu/g sol. Totais x 1000						PEu/g sol. Totais x 1000					
	Casca	Membr.	Vesic.	Semente	Suco		Casca	Membr.	Vesic.	Semente	Suco	
Set.	45.5	52.2	221.4	7.5	2.6		69.9	54.5	341.5	9.8	1.2	
Out.	61.8	51.6	300.9	5.5	2.6		61.0	57.1	296.7	4.1	3.3	
Nov.	73.8	147.6	313.9	5.2	1.1		68.9	79.0	272.5	3.8	1.9	
Dez.	50.8	59.5	298.4	2.2	0.3		72.0	120.1	376.6	5.1	2.6	
Jan.	54.9	112.8	337.5	4.0	0.9		63.8	80.7	281.1	5.1	2.5	
Fev.	51.1	79.7	286.4	3.5	0.9		51.0	85.4	251.5	2.5	1.6	
Mar.	141.3	198.4	597.4	3.0	0.8		83.5	129.5	349.0	6.6	3.2	
Abr.	143.2	184.5	479.8	4.1	1.6		72.5	122.6	362.8	4.9	2.2	
Mai.	84.3	158.0	408.3	3.6	0.8		84.7	123.6	294.4	4.7	0.7	
Média	78.5	416.0	360.4	4.3	1.3		67.5	94.7	313.0	5.2	2.1	

Fonte: ROUSE e colaboradores (1964).

Analisando os mesmos componentes da laranja anteriormente estudados eles também concluíram que, de forma genérica, a atividade de PE foi maior quando a relação Brix/acidez era maior. Entretanto a atividade variou entre componentes similares em meses semelhantes durante as duas safras. Mais de 52% da atividade presente foi encontrada nas vesículas de suco, que representaram aproximadamente 22,5% da fruta inteira.

2.7.6.2.2 - POLIGALACTURONASE

As poligalacturonases (PG) ou alternativamente D-galacturonas, têm especificidade absoluta para as ligações 1,4 glicosídicas entre os resíduos da ácido galacturônico. Até pouco tempo acreditava-se que, embora a maioria das PGs preferissem pectinas desesterificadas como substrato, as polimetilgalacturonases (PMG) também existiam. Entretanto REXOVA - BENKOVA e MARKOVIC (1976) citados por SCHWIMMER (1981), afirmaram que a PMG não existe e que as PGs conhecidas preferem ácido pectico ou pectinas de teores de metoxila bem baixos como substrato.

Analogamente a outras glucanases, como amilases e celulasas, as PGs podem ter ação endo (aleatoriamente) ou exo (terminal) hidrolíticas. Embora todas as endo PGs atuem em ligações internas da pectina, resultando numa queda brusca da viscosidade, padrões individuais de especificidade aparecem apenas quando se compara a ação em oligômeros de cadeia curta. Entretanto nenhuma delas tem capacidade de clivar o ácido digalacturônico (SCHWIMMER, 1981).

Com apenas uma exceção, as exo-PGs atacam a molécula de pectina a partir da extremidade não redutora. Esta exceção também é a única exceção à regra que diz que todas as enzimas que atuam na pectina são encontradas em plantas e microorganismos, pois ela existe no trato intestinal de algumas espécies de insetos patogênicos (SCHWIMMER, 1981).

2.7.6.2.3 - PECTINA E PECTATO LIASES

Essas enzimas, antigamente chamadas de pectina transeliminases, não desempenham um papel importante para as características dos tecidos das plantas, pois estão presentes quase que apenas em organismos patogênicos, cuja presença resulta na deterioração do vegetal. Os tipos de especificidade (endo e exo) que ocorrem nas PGs existem também nas pectato-liases (SCHWIMMER, 1981).

Uma esquematização de todas as enzimas que atuam sobre a pectina está na figura 10.

2.8- TURBIDEZ EM SUCOS CÍTRICOS

A turbidez que os sucos cítricos apresentam é uma propriedade importante para sua aceitação por parte do consumidor.

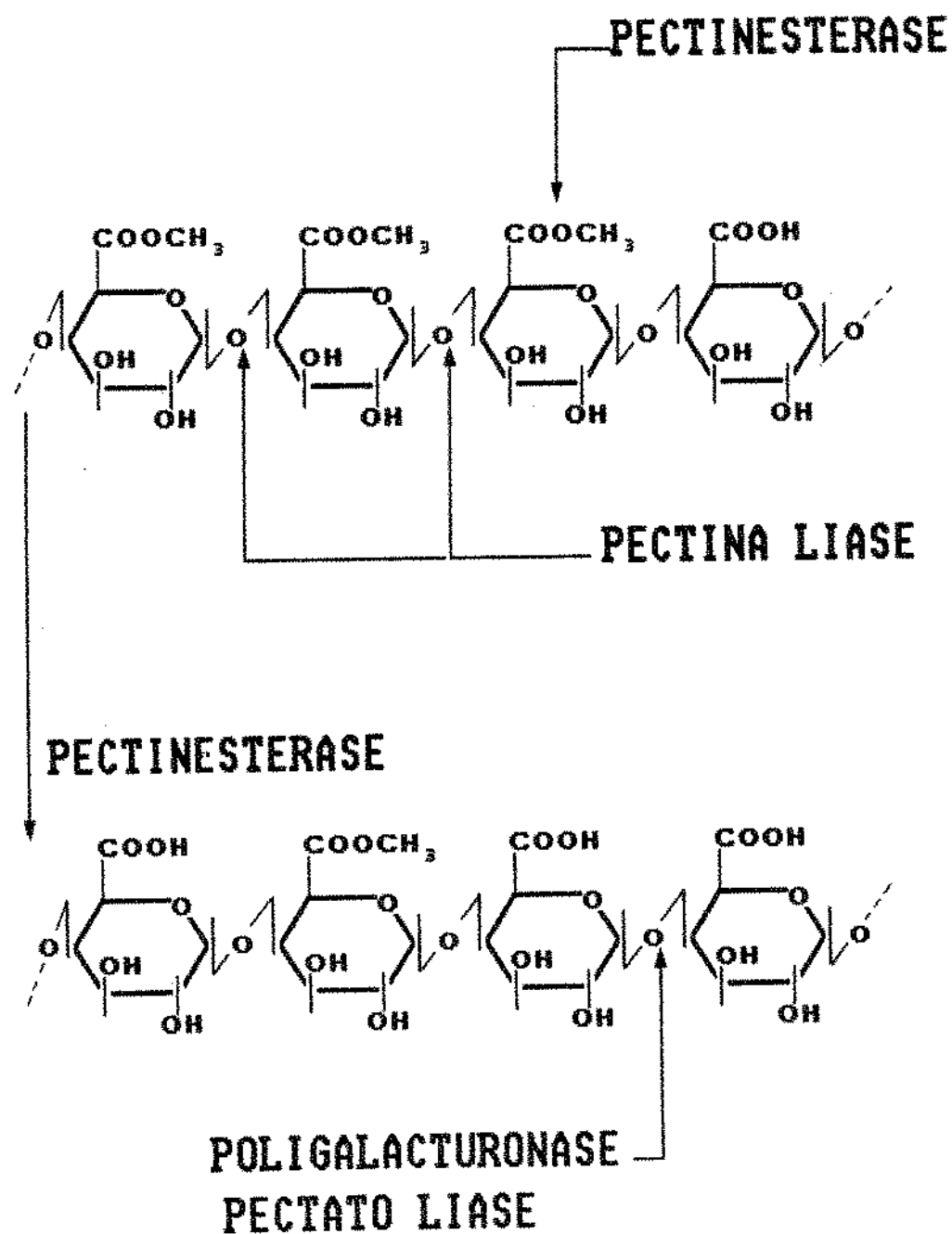
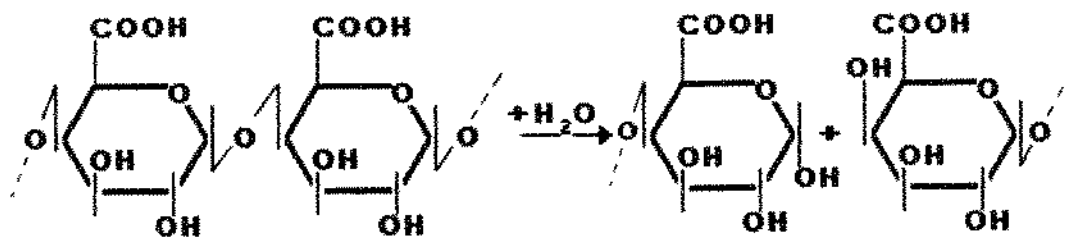
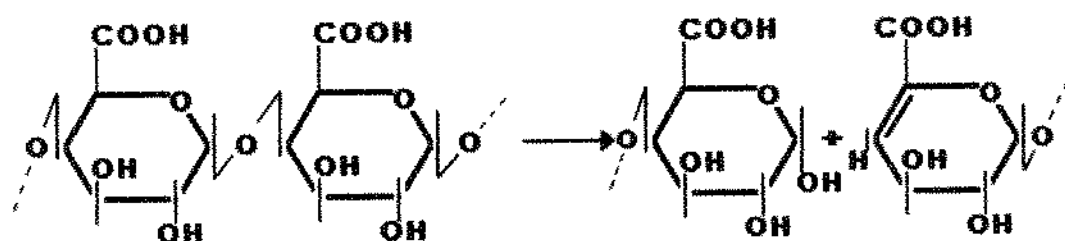


Figura 10 - Reações enzimáticas na molécula de pectina

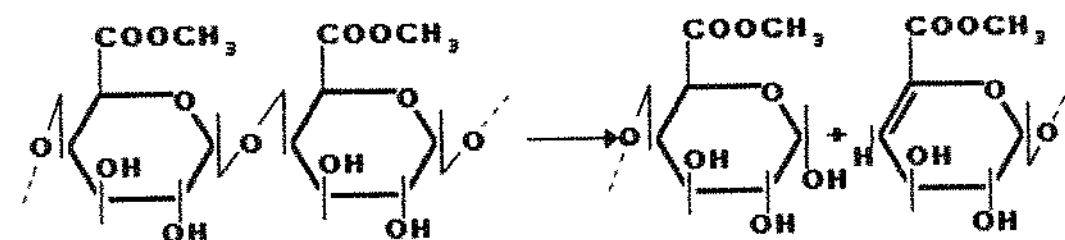
Fonte: SCHWIMMER (1981).



POLIGALACTURONASE



PECTATO LIASE



PECTINA LIASE

Figura 10 - Continuação

Fonte: SCHWIMMER (1981).

Ao contrário de sucos de frutas como uva, maçã e cereja, onde a clarificação é desejada, os sucos cítricos e outros como caju, devem ser turvos para que sejam bem aceitos (MORETTI, 1989).

Essa turbidez é uma mistura heterogênea de partículas contendo quantidades variáveis de fragmentos de paredes celulares, gotículas de óleo, cromatóforos e, em algumas variedades como em laranjas "Shamouti", cristais de hesperidina. Partículas suficientemente pequenas para serem consideradas componentes devem estar na faixa de 0,5 a 10 μm . Elas representam aproximadamente 0,48% dos sólidos secos em suco de laranja não concentrado, ou aproximadamente 2,6% em suco concentrado a 65°Brix (MIZRAHI e BERK, 1970).

A tabela 14 descreve os elementos que conferem a turbidez ao suco de laranja.

Como pode ser visualizado nessa tabela, as partículas do material em suspensão contém aproximadamente 20% de lipídeos, 34% de proteína e 32% de pectina. Celulose e hemicelulose estão presentes a nível de 2% ou menos. Os níveis relativamente altos de celulose e hemicelulose encontrados no albedo e polpa, sugerem que a turbidez não é consequência da maceração desses tecidos, mas um componente inerente ao suco. Esta hipótese também é sustentada pelos baixos níveis de lipídeos e proteínas desses tecidos estruturais em relação aos níveis da turbidez. (CRANDALL e colaboradores, 1983).

MIZRAHI e BERK (1970), afirmaram que a estabilização da turbidez no suco de laranjas "Shamouti" era consequência da hidratação das partículas na fase dispersa, ao invés de sua carga elétrica.

Tabela 14 - Elementos da turbidez do suco de laranja.^a

Componentes	(% (base seca)	
	Material suspenso bruto	Turbidez
Lípidos _{b, c}	10,0	20,0
Proteína _b	24,0	34,0
Pectina _b	33,0	32,0
Hemicelulose	17,0	2,0
Celulose	10,0	1,5
Nitrogênio	3,8	5,7
Cinzas	3,2	2,0
P ₂ O ₅	0,4	1,0

a - SCOTT e colaboradores (1965). Componentes não lipídicos ajustados para turbidez total.

b - Proteína Nx0,25; valores para pectina de SCOTT e col. teor de pectina menos teor de proteína.

c - Proteína pelo método de Lowry (BAKER e BRUEMMER, 1969).

Fonte: Adaptado de CRANDALL e colaboradores (1983)

II.8.1 - PROCESSO DE CLARIFICAÇÃO

Embora a turbidez em um suco de laranja recém extraído seja difícil de remover da suspensão, essa estabilidade é transiente. Sem um tratamento estabilizante, a turbidez colapsa e o suco clarifica, resultando num sistema de duas fases de aspecto pouco atraente ao consumidor, perdendo o produto seu valor comercial. Além disso, a suspensão coloidal que foi quebrada contém a maioria dos elementos de cor e aroma da laranja (BAKER e BRUEMMER, 1972).

Várias teorias surgiram para explicar a clarificação de suco de laranja. As primeiras hipóteses salientavam o efeito protetor de uma camada de pectina, formando uma matriz coloidal circundando as partículas suspensas (ROUSE e ATKINS, 1955).

DIETZ e ROUSE (1953), elaboraram a teoria de que o mecanismo de precipitação envolve a ação da enzima pectinesterase sobre a pectina do suco, convertendo-a em pectina de baixo teor de

grupos metoxila. Essa pectina reagindo com cátions bivalentes como o Ca^{2+} formaria pectatos insolúveis. Presumivelmente a precipitação desses pectatos provoca a oclusão das partículas, removendo-as da suspensão.

Porém foi demonstrado (BAKER e BRUEMMER, 1969 citados por BAKER e BRUEMMER, 1972) que a pectina solúvel não é necessária para sustentar a suspensão coloidal, pois uma suspensão estável dos outros componentes pode ser feita em água. Assim somente a pectina de baixo teor de grupos metoxila, resultante da ação da PE seria fonte de desestabilização da turbidez, ou seja, a pectina após a ação da enzima forneceria as condições necessárias para o colapsamento do sistema, não desempenhando um papel fundamental para sua sustentação em seu estado natural.

KROP e PILNIK (1974), também confirmaram o presumido papel do cálcio no fenômeno de clarificação, pois em seus experimentos a turbidez de sucos era preservada, embora na presença de atividade normal de PE, quando os íons cálcio eram previamente precipitados com oxalato de cálcio.

Outro trabalho (KIEFER, 1961) sugere que a clarificação não é apenas causada pelos efeitos da PE mas, em adição a isso, uma oxidação ativada por enzimas oxidativas em conexão com o ácido ascórbico. A reação subsequente à ação da PE seria a quebra da molécula de pectina, via oxidação, pois o sistema de enzimas oxidativas produz oxigênio ativado que entra na molécula para formar um hidroperóxido. Esse peróxido seria então o responsável pela desestabilização da turbidez.

LANKVELD, (1973) (citado por SHWIMMER, 1981) propõe que a clarificação ocorra pelo aumento da atração eletrostática entre os pectatos resultantes da ação da PE e as proteínas.

Todos os mecanismos propostos envolvem a atuação da PE como elemento *sine qua non* para causar a floculação do material suspenso.

O grau de esterificação da pectina no qual se inicia o processo de clarificação foi estudado por KROP e colaboradores. (1974), porém o valor crítico de éster foi difícil de ser determinado pois o grau de esterificação da pectina do suco que pode ser medido é uma média daquele de todas as moléculas presentes, que são naturalmente heterogêneas. Além disso, a atividade da PE não é aleatória, como já foi anteriormente mencionado, mas remove os grupos metoxila sequencialmente em uma molécula individual de pectina. Desta forma, num sistema rico em substratos como o suco de laranja, algumas moléculas podem ficar extensivamente desesterificadas, enquanto que outras não são afetadas. Assim, uma fração que já esteja desestabilizada pode ser mascarada por outra altamente esterificada.

Para contornar esses problemas BAKER, (1979) usou pectinas fracionadas a diferentes graus de esterificação, testando o potencial de clarificação num sistema controlado. Seus resultados mostraram que, para as condições usadas, as frações de pectina com graus de esterificação de até 21% não destabilizavam a turbidez. A clarificação se iniciou com valores de 14%, indicando que o grau crítico de esterificação para que o fenômeno ocorra está entre 14% e 21%.

Num estudo de pectinas aleatoriamente desmetoxiladas com NaOH, o valor em que a clarificação ocorria foi encontrado como sendo de 14,8% (BAKER, 1976).

Esses estudos indicam que a clarificação ocorre quando a razão entre unidades livres e unidades esterificadas se aproxima de 6.

2.9 - ESTABILIZAÇÃO

A estabilização da turbidez requer que a sequência de eventos que resultam na precipitação do material em suspensão seja interrompida. Aceitando-se que a ação da PE seja o principal agente responsável pela quebra da suspensão coloidal, objetiva-se inativá-la para conseguir um suco com turbidez estável.

O uso de calor é o método mais comumente utilizado, sendo empregado no Brasil por todas as indústrias de suco de laranja concentrado (MORETTI, 1989). Entretanto um tratamento adequado é requerido para inativar a PE sem conferir ao suco um sabor de queimado e não perder o sabor natural.

Em 1952, ROUSE e ATKINS analisaram o efeito do tratamento térmico em sucos de laranjas Valência e grapefruit Duncan, usando diferentes tempos de retenção (5, 10, 15, 30, 60, 90 e 120 segundos) e diferentes teores de polpa (5% e 10%) a pHs que variavam de 3,2 a 4,1.

Eles encontraram que a PE existente no suco de grapefruit foi completamente inativada aquecendo o produto por 0,8 s* a : 90,5°C, pH 3,0; 93,5°C, pH 3,5 e 96,0°C, pH 3,8.

Em suco de laranjas Valência, a enzima foi inativada aquecendo por 0,8 s* a: 93,5°C, pH 3,2; 96,0°C, pH 3,6 e 99,0°C, pH 4,1.

Para temperaturas inferiores às anteriormente citadas, usando-se tanto suco de grapefruit como de laranjas, mas com 5% de

* - Tempo calculado para levar a amostra da temperatura ambiente à de teste. Neste caso o tempo de retenção no pasteurizador necessário para a completa inativação foi zero.

polpa o tempo de retenção pode ser de 4 a 5 segundos, dependendo da temperatura e pH.

ROUSE e ATKINS, (1953) estudaram o efeito de várias temperaturas e tempos de retenção para inativação de pectinesterase encontrada em sucos de laranja Hamlin e Pineapple. O suco contendo 10% de polpa, pH 3,8, foi aquecido a temperaturas de 63°C a 99°C em 0,8 s e mantido a essas temperaturas por um tempo de 0 a 180 s.

Em sucos de laranjas Hamlin a enzima foi completamente inativada em 60 s, 15 s, 5 s e 3 s a temperaturas de 85°C, 88°C, 90,5°C e 93,5°C respectivamente. Variando-se o pH, a inativação foi obtida aquecendo-se em 0,8 s a:

- 1) 93°C com pH 3,2
- 2) 99°C com pHs 3,8 e 4,2

Já para laranjas Pineapple, sucos com pHs 3,2 e 3,8 foram completamente inativados aquecendo-os em 0,8 s a 96°C. Quando o pH era 4,2 a temperatura requerida foi 99°C.

ATKINS e ROUSE, (1953) estudaram a inativação da PE pelo calor em laranjas Valência, "Pineapple" e "Parson Brown". Também em grapefruit Duncan e tangerinas "Dancy".

Usando um pasteurizador com tempos de retenção de 12, 6 e 3 segundos para tratar termicamente os sucos das frutas até sua completa inativação enzimática, eles verificaram que isso ocorria nos sucos de laranja com pH 3,6 entre 88°C e 96°C. Entretanto, em sucos com pH 4,1 foram necessárias temperaturas de 93,5°C a 99°C.

Para suco de grapefruit com pHs entre 3,3 e 3,8, a inativação ocorreu entre 88°C e 96°C, dependendo do tempo de

aquecimento. No suco de tangerinas a pH 3,8, aquecida nos diferentes tempos (12 s., 6 s. e 3 s.), houve inativação a 90,5°C, 93,5°C e 96°C repectivamente.

Em 1954 ATKINS e ROUSE estudaram também o efeito da concentração do suco no tempo de inativação de PE em sucos de laranjas Valência, "Pineapple", além de grapefruit com sementes. As concentrações usadas foram de sucos de 12°Brix, 23°Brix, 33°Brix e 42°Brix.

Eles concluíram que a porcentagem de PE inativada nos sucos concentrados aumentava, tanto pelo aumento da temperatura, como pelo aumento do tempo de retenção no pasteurizador. Porém foi observado que o grau de concentração dos sucos não mudou o requerimento térmico para inativar completamente a PE.

Contrariamente, KELLER e colaboradores (1954), estudando os efeitos do aquecimento de suco não concentrado e concentrados a 27°Brix, 43°Brix e 58°Brix, reportaram que o tratamento térmico dos produtos de concentrações mais elevadas produziam uma maior inativação da PE que o tratamento do suco natural (não concentrado), embora não ficasse claro que uma determinada concentração produzisse melhores efeitos que outra, apenas quando comparado com suco natural. Eles ainda indicaram que os sucos de maior concentração tinham uma turbidez mais estável.

GUYER e colaboradores, (1956) reportaram o efeito do tratento térmico na inativação enzimática e na estabilidade da turbidez em suco concentrado feito de laranjas Valência e Pineapple. O suco a ser evaporado foi tratado num pequeno trocador de calor tubular de fluxo turbulento.

Os resultados mostraram que uma mudança na temperatura de

tratamento tinha um efeito mais pronunciado na inativação enzimática do que um aumento no tempo de retenção a qualquer temperatura. Temperaturas maiores ou iguais a 65°C, com exceção de alguns tempos de retenção menores, reduziram a atividade da PE a 25% ou menos da atividade original. Com o aumento dos níveis de tratamento térmico a atividade da enzima diminuiu e o tempo de estabilidade aumentou.

O tratamento a 82°C conferiu aproximadamente três semanas de estabilidade ao concentrado a 42° Brix .

Mesmo havendo aparecido uma pequena diferença comparativa na porcentagem de atividade remanescente quando se tratou os sucos a 65,5°C e 99°C, houve um pronunciado aumento na estabilização a 82°C quando comparado a 77°C.

Os autores afirmaram que embora aparente haver uma associação definida entre a atividade enzimática e a estabilidade, os efeitos não são proporcionais. Eles acreditam haver uma consequência do tratamento térmico além da inativação da PE que previne a separação e gelatinização, talvez por alterações nas substâncias pécicas do suco.

CARROL e colaboradores, (1957) conduziram por um período de três anos um experimento para determinar o efeito do tratamento térmico na inativação enzimática, na estabilização da turbidez e no sabor de sucos de laranjas Valência a várias concentrações.

Seus resultados indicaram que a inativação da enzima foi maior em sucos de concentrações intermediárias do que em suco não concentrado. Também a estabilidade da turbidez foi maior em sucos concentrados.

ROTHSCHILD e colaboradores, (1975) estudaram as condições de pasteurização de sucos e produtos cominuídos em frutas cítricas israelenses. Foi determinada a relação tempo/temperatura para a inativação térmica da PE em diferentes variedades de citrus, pH e atividades enzimáticas.

O grau de inativação que ocorreu para suco de grapefruit a diferentes temperaturas é apresentado na tabela 15.

Tabela 15 - Grau de inativação enzimática em suco de grapefruit.

Temperatura (°C)	GRAU DE INATIVAÇÃO (%)			
	pH da amostra			
	2,8 ^a	3,1	3,4 ^a	3,6 ^a
30	0	-	-	-
35	-	0	-	-
40	24	18	-	-
45	61	48	0	-
50	80	74	25	0
55	80	80	88	54
60	80	80	80	72
65	80	80	80	71
70	80	80	80	72
75	86	80	80	72
80	100	95	83	82
85		100	95	92
90			100	100

a - Valores de pH ajustados.

Fonte: ROTHSCCHILD e colaboradores (1975).

A inativação iniciou e foi completada a temperaturas mais baixas nas amostras mais ácidas. Diferenças de apenas 5°C apresentaram um efeito de inativação considerável para temperaturas de pasteurização a partir de 50°C a pH 2,8; 55°C a pHs 3,1 a 3,4 e 60°C a pH 3,6.

Testando-se a influência de diferentes atividades de PE a temperaturas requeridas para total pasteurização (tempo de

tratamento 60 s), os autores verificaram que grandes variações na atividade enzimática de um determinado suco requerem a mesma temperatura de inativação. Exemplificando temos que a temperatura de 90°C foi requerida para a total inativação da enzima em dois sucos de laranjas Valência (pHs 3,4 e 3,6), tanto para uma atividade de 6×10^4 PEu/g, como para 60×10^4 PEu/g.

Foi encontrado que as temperaturas de pasteurização necessárias para limão, grapefruit e laranjas variam de 75°C a 90°C para sucos de pHs 2,4 a 3,6, e de 80°C a 95°C para materiais cominuidos de pHs 2,7 a 3,9.

Posteriormente EAGERMAN e ROUSE, (1976) determinaram os valores "F" e "Z" para a inativação da PE em três tipos de suco de laranja e uma variedade de suco de grapefruit.

Esse procedimento e terminologia foram desenvolvidos primariamente para alimentos enlatados de baixa acidez, mas são usados para a pasteurização de outros produtos e também para descrever a razão de destruição térmica de enzimas e vitaminas.

O termo "Z" é numericamente igual ao número de graus de uma unidade de temperatura requeridos para que a curva de destruição térmica atravesse um ciclo logarítmico.

O valor "F" é definido como o número de minutos a uma dada temperatura para a inativação de uma determinada porcentagem da enzima.

O tempo necessário para reduzir a atividade enzimática em um ciclo logarítmico num gráfico semilog de atividade x tempo a uma dada temperatura é chamado "Dt".

Os autores acrescentaram enzima purificada em sucos previamente esterilizados e aquecidos à temperatura de teste, padronizando assim a atividade enzimática inicial e minimizando a fase lag.

Os sucos de laranjas foram ajustados para 12,8°Brix, 12% de polpa e pH 4,1. Os de grapefruit foram ajustados para 10,5°Brix, 10% de polpa e pH 3,6. Na tabela 16 estão os valores encontrados para $Fr = 1,0$ minuto.

Tabela 16 - Temperatura de processamento e valores de "Z" para diferentes variedades de sucos cítricos.

Variedade	Temperatura (°C)	Z (°C/log min.)
Lar. Hamlin	87,5	4,02
Lar. Pineapple	87,8	4,21
Lar. Valência	90,0	5,66
Grapef. Duncan	85,6	4,28

Fonte: EAGERMAN e ROUSE, (1976)

Para a prática comercial eles recomendaram que as condições necessárias para pasteurizar o suco de laranjas Valência sejam usadas para todas as variedades de laranja.

NATH e RANGANNA (1977), encontraram para laranjas Mandarin, para $Fr = 1,0$ min.:

- $T = 91,9^{\circ}\text{C}$, $Z = 9,02^{\circ}\text{C}/\log \text{ min.}$, $D = 0,25^{\circ}\text{C}/\log \text{ min.}$
- $T = 94,2^{\circ}\text{C}$, $Z = 7,95^{\circ}\text{C}/\log \text{ min.}$, $D = 0,21^{\circ}\text{C}/\log \text{ min.}$

Como a atividade de PE em laranjas Mandarin varia grandemente (37×10^{-4} - 52×10^{-4} PEu/ml), caso a atividade do suco a ser pasteurizado for maior do que a usada no estudo do tempo de inativação térmica, o valor valor "F" pode ser inadequado para

inativação completa. Assim foram recomendados para pasteurização comercial processos de 2D a pH 3,6 e 2,5D a pH 4,0. O aumento correspondente de tempo é muito pequeno ($F_{01,0} = 1,09$ min. e $F_{04,2} = 1,10$ min.)

KÖRNER e colaboradores (1980) isolaram pectinesterase de laranjas Valência e Shamouti através de fracionamento com sulfato de amônio seguido de passagem através de uma coluna de troca iônica de CM - Sephadex. Foram obtidos dois picos na cromatografia em CM-Sephadex. Os resultados indicaram a existência de duas formas diferentes da enzima (diferentes formas moleculares) nas variedades estudadas.

Algumas propriedades das duas frações purificadas (A e B) foram analisadas. Os mesmos pHs e temperatura ótimos foram determinados como 7,5 e 60°C respectivamente para ambas as frações. Também similares constantes de Michaelis (0,029% para a fração A e 0,031% para a fração B) foram encontrados.

As medidas de pH foram calculadas entre os valores 4,0 e 8,0 , pois medidas acima de pH 8,0 não forneceram resultados confiáveis devido a intensa saponificação da pectina pelo meio alcalino.

A energia de ativação da reação enzimática foi calculada através da curva de Arrhenius. Valores muito próximos (5600 cal.mol⁻¹ e 5740 cal.mol⁻¹) foram obtidos para as duas frações de PE respectivamente.

A influência na ativação enzimática do ácido poligalacturônico , ácido alginico, ácido galacturônico e EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) estão na tabela 17.

Tabela 17: Influência de vários compostos na atividade da PE

Inibidor	Concentração	Atividade Relativa (%)	
		Pico A	Pico B
Nenhum	-	100,0	100,0
Ac. poligalact.	0,1%	84,2	80,0
Ac. Algínico	0,5%	97,3	95,2
Ac. Galacturônico	$1 \times 10^{-2} M$	100,0	100,0
EDTA	$1 \times 10^{-2} M$	44,7	38,0

Fonte: KÖRNER e colaboradores (1980).

Observou-se uma maior inibição com EDTA, que age como um agente quelante dos íons com duas cargas positivas e é conhecido por inibir várias enzimas. O ácido poligalacturônico age como um inibidor competitivo em PE. Já os ácidos algínico e galacturônico não tiveram efeito inibidor.

Na determinação da influência direta das frações de PE na estabilidade do suco, foi feita uma comparação da estabilidade do suco natural com outros tratados termicamente onde foram adicionadas as frações A e B e PE natural (tabela 18). A atividade foi ajustada ao nível existente no suco fresco. O pH de todas as amostras foi ajustado a 3,3, porém não há relato sobre a temperatura de teste.

Tabela 18 - Efeito das frações de PE na turbidez do suco de laranja.

Tempo(h)	Turbidez Relativa (%)				Suco Tratado
	Suco Natural	Suco tratado + PE			
		PE nat.	Pico A	Pico B	
24	83	100	82	97	100
48	58	53	31	57	100
56	13	10	20	32	100

Fonte: KÖRNER e colaboradores (1980)

VERSTEEG e colaboradores (1978) estudaram laranjas "Navel" (Cumbigo) isolando duas formas de PE que contam por 90% da atividade neste tipo de laranja. Elas mostraram consideráveis diferenças na resistência ao calor e propriedades de desestabilizar a turbidez.

Elas foram denominadas Pectinesterase I (PE I) e Pectinesterase II (PE II) e apresentaram pesos moleculares da ordem de 36.200. PE I tem atividade específica de 694 unidades por miligrama de proteína e pH ótimo de 7,6. A PE II tem atividade específica de 762 unidades por miligrama de proteína e pH ótimo de 8,0.

Em outro artigo (VERSTEEG e colaboradores, 1980) isolaram uma terceira isoenzima de laranjas Navel chamada de Pectinesterase de Alto Peso Molecular que tem um peso molecular de 54.000, mas que responde apenas por 5% da atividade total do extato cru. Seu pH ótimo foi encontrado como sendo 8,0.

Também a estabilidade térmica das três frações foi determinada. A PE II foi rapidamente inativada em torno de 60°C, a PE I a 70°C, mas a PE de alto peso molecular requer temperaturas de 90°C para rápida inativação.

A perda de atividade foi menor que 15% em dois anos quando as enzimas foram armazenadas a 4°C em tampão fosfato a pH 7,5 e força iônica 0,1.

Todas as três enzimas foram inativadas mais rapidamente no suco concentrado do que no suco natural. Os dados sugerem que a PE de alto peso molecular e, em menor grau a PE I, podem ser estáveis a temperaturas abaixo de zero.

Testando a habilidade das enzimas em desestabilizar a turbidez do suco incubado a 30°C e 5°C, foi verificado que todos os preparados enzimáticos, com exceção da PE II, desestabilizam suco de laranja. Este fenômeno se tornou aparente quando a concentração de metanol atingiu 30 mg/l. A 30°C a separação ocorreu após algumas horas, porém a 5°C o suco só clarificou completamente depois de uma semana.

Foi também demonstrado que a PE de alto peso molecular desempenha um papel predominante na desestabilização de suco resfriado, ativo enzimaticamente, pois a 5°C a PE II não desestabiliza o suco e a PE I apenas muito lentamente.

Os autores acreditam que a PE de alto peso molecular seja responsável pela gelificação que ocorre em concentrados produzidos pelo processo "cut-back" que são armazenados acima da temperatura crítica de -20°C.

WICKER e colaboradores, (1987) estudaram o efeito da temperatura na atividade da PE do extrato enzimático de polpa de laranjas Valência. Eles observaram um aumento da atividade da PE com o aumento de temperatura (porém a temperatura máxima utilizada foi 60°C).

A equação que melhor descreveu a variação de atividade com a temperatura é: $\ln PE_u = 14,3446 - 3415(1/T)$ onde "T" está em graus Kelvin.

O coeficiente de correlação foi de 0,991 e a energia de ativação foi determinada como 28.392 J/mol. A equação de regressão foi usada para determinar atividades enzimáticas de diferentes amostras de suco.

As variações encontradas em três replicações de suco de laranja foram atribuídas às diferenças que existem entre lotes, mesmo dentro de uma mesma variedade, como maturidade, grau de extração, teor de polpa, condições de processamento, etc.

A análise estatística indicou que não há diferença significativa a nível de 5% entre o extrato cru de PE e os diferentes sucos de laranja, à mesma temperatura. Assim, em combinação com outros estudos de armazenamento, a equação pode ser usada para prever a atividade de PE a qualquer temperatura onde a relação linear é válida.

Também MARSHAL e colaboradores, (1985) estudando os efeitos dos sólidos solúveis no nível de inativação térmica de PE em suco de laranjas Valência, observaram que em sucos de 10°Brix a 35°Brix a inativação seguia uma cinética de primeira ordem, num gráfico semi-log de atividade x tempo.

Entretanto, acima de 40°Brix, a razão da inativação enzimática diminuía, aparecendo uma curva sigmoidal, indicando o que os autores chamaram de "efeito protetor" da concentração.

Um trabalho de WICKER e TEMELLI, (1988) reporta sobre a inativação térmica em polpa de suco de laranja na expectativa de estandardizar as práticas industriais de tratamento térmico para a polpa. Foram usadas laranjas Valência e a polpa foi coletada usando-se um "finisher" com chapas perfuradas de 5,0 mm.

A inativação térmica foi não linear, sugerindo a presença de frações enzimáticas com diferentes estabilidades térmicas. A atividade residual decresceu rapidamente a 4% da inicial, aquecendo-se por 19 s. a 80°C. Com tratamentos de até 180 s. a 80°C, o decréscimo adicional foi pouco maior.

Os valores "D" a 90°C para as frações termossensíveis e as termorresistentes foram encontrados como 0,225 s. e 32 s. respectivamente. Os valores "Z" foram estimados como 10,8°C e 6,5°C para as frações acima citadas.

II.9.1 - MÉTODOS ALTERNATIVOS

Outras formas de aumentar a estabilidade do suco de laranja, como alternativa ao tratamento térmico, também foram pesquisadas.

BAKER e BRUEMMER, (1972) usaram pectinases comerciais para estabilizar o suco. Adicionando enzimas pectinolíticas ao suco, eles provocaram a despolimerização das moléculas de pectina, formando pectatos solúveis incapazes de precipitar com cálcio, ao invés dos pectatos insolúveis formados pela ação da PE.

A turbidez em suco de laranja fresco foi estabilizada sem aquecimento, adicionando pectinases comerciais. O nível de estabilização foi observado como sendo diretamente proporcional à concentração da enzima e temperatura do tratamento. Foram testadas concentrações entre 50 e 500 ppm a 4°C, e temperaturas entre 4°C e 29°C, fixando-se a concentração em 200 ppm.

Os dados indicaram que a enzima tem uma ação clarificante inicial e que, passado esse período, há um aumento na turbidez. As pectinases mais efetivas foram aquelas que apresentaram alta atividade de PG.

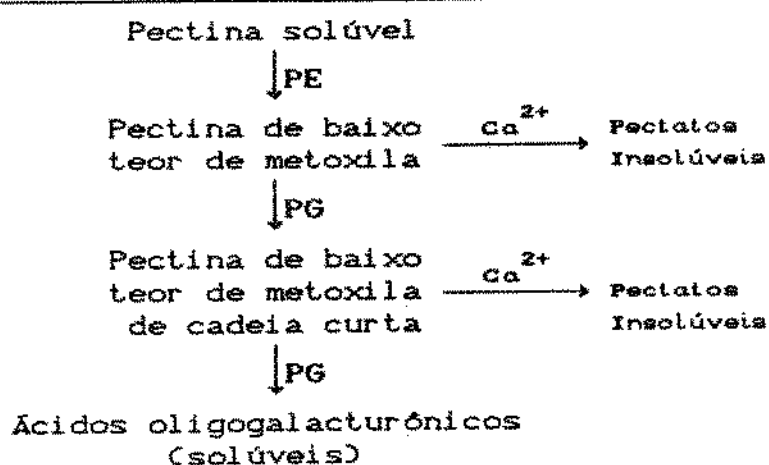
O provável mecanismo pelo qual ocorre a estabilização é apresentado na figura 11.

O sucesso da aplicação do método requer uma satisfatória

esterilização a frio do suco e uma forma de prevenir a deterioração enzimática do sabor.

Uma modificação possível, empregando o mínimo de calor necessário para pasteurizar o suco, seguido da adição das enzimas pectinolíticas, também foi testada com sucesso pelos autores.

Figura 11 - Possível mecanismo de degradação enzimática da pectina por PE e PG.



Fonte: BAKER e BRUEMMER (1972)

PADIVAL e colaboradores, (1980) conduziram experimentos para melhorar a estabilidade da turbidez em bebidas cítricas como refrescos (laranjadas), "crushes", xaropes, etc que contém 25% de suco e entre 20% e 65% de sólidos solúveis.

Eles adicionaram aos produtos 0,05% a 0,1% de pectina de baixo teor de grupos metoxila (contendo 4,5% de grupos metoxila) e 2 mg a 6 mg de cálcio por 100 g de bebida. Foram feitos grupos de produtos usando suco pasteurizado (PE inativo) e não pasteurizado (PE ativo) e tempos de armazenamento de até um ano à temperatura ambiente (25°C - 30°C).

Em todos os casos eles encontraram um aumento na estabilidade dos produtos em questão e verificaram que a concentração da pectina BTM e cálcio necessários para produzir tal efeito diminuía, quanto maior a quantidade de sólidos solúveis presente.

Eles basearam-se no princípio de que o cálcio adicionado a concentrações muito inferiores às necessárias para formar um gel, resulta num considerável aumento da viscosidade da pectina BTM, mantendo a turbidez do produto em suspensão. Procedendo dessa forma, concluíram que a inativação da PE não era essencial para a estabilização da turbidez.

Uma possível explicação para o aumento da viscosidade e a consequente estabilização do suco foi dada por GIERSHMER, (1981) que deixou a enzima PE agir em suco de laranja recém-extraído, ao mesmo tempo em que se adicionava uma pequena quantidade de sais de cálcio com intensa trituração da polpa. A estabilização da turbidez pode ser então obtida; perdurando por vários anos.

O modelo por ele construído (figura 12) não esclarece todas as questões, mas ajuda a demonstrar os processos no qual uma rede tridimensional com água imobilizada é construída.

Com a desesterificação da pectina ocorrendo por segmentos (preferivelmente pela extremidade redutora), as cadeias vão crescendo por pontes de cálcio e pela inclusão de outros constituintes da parede celular primária.

Assim a densidade da miscela " ρ " aproxima-se daquela do fluido circundante, ou seja, diferença entre as duas se aproxima de zero e, de acordo com a lei de Stokes:

$$V = \frac{d^2(\rho_T - \rho_F)g}{18\eta}$$

A velocidade de precipitação "V" se aproxima de zero.

O autor também afirma que o efeito da estabilização obtida quando a pectina é degradada a oligômeros incapazes de precipitar com cálcio, ocorre quando a degradação produz compostos com 8 a 10 unidades de ácido galacturônico.

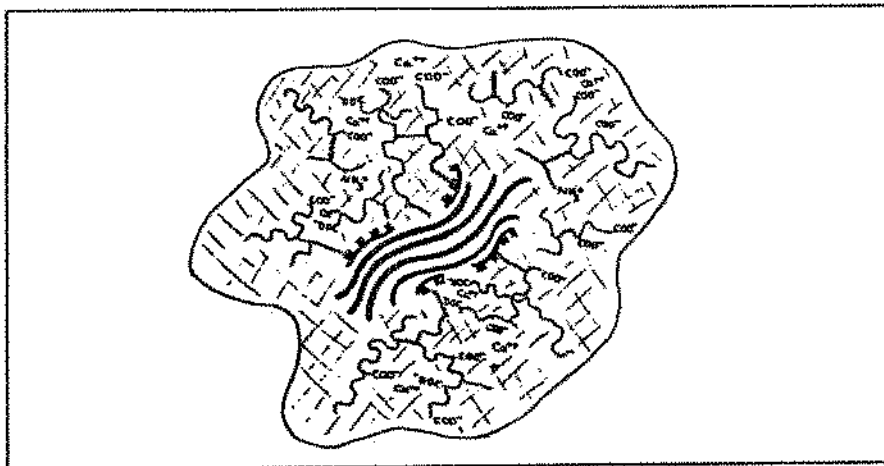


Figura 12 - Modelo de complexo estável da turbidez em suco de laranja.

Fonte: GIERSHMER (1981)

TERMOTE e colaboradores, (1976) usando esses oligômeros do ácido galacturônico para estabilizar sucos de diversas variedades de laranja com PE ativa, concluíram também que os hidrolizados com grau de polimerização de 8 a 15 unidades, provaram ser aplicáveis para obter uma estabilização por um tempo três a cinco vezes maior que o controle.

III - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - MATERIAL UTILIZADO

1 - Quatro variedades de laranjas foram compradas no comércio local, no período de set/90 a jun/91. São elas:

- a - Laranja Pêra Rio
- b - Laranja Pêra Coroa
- c - Laranja Natal
- d - Laranja Valência

Os frutos foram cortados em duas metades e o suco extraído usando-se uma extratora marca CROYDON modelo EX/0278. Todas as amostras foram acondicionadas em frascos plásticos e armazenadas a - 20°C.

2 - Amostras de suco concentrado a 65°Brix das safras 90/91 foram obtidas junto à CITROSUCO PAULISTA S/A de Matão - S.P. Foram fornecidos dez frascos de 200 ml, todos de diferentes lotes, sendo cinco de 1990 e cinco de 1991. Durante o transporte todas as amostras foram acondicionadas em embalagens isotérmicas e posteriormente armazenadas a -20°C.

3 - Laranjas Pêra Coroa para o estudo de atividade de PE em função da maturação da fruta foram colhidas de uma mesma árvore do pomar do Sr. Hristo Peev, da cidade de Indaiatuba - S.P., que gentilmente colaborou com esta pesquisa. O período produtivo da árvore foi de maio ao final de julho de 1991, e todas as suas frutas foram destinadas para análise.

4 - Suco de laranja liofilizado foi obtido a partir de laranjas Pêra Coroa, utilizando-se um liofilizador marca LEYBOLD-HERAEUS modelo GT 6.

5 - Pectina purificada de alto teor de grupos metoxila foi obtida junto à BRASPECTINA S/A de Limeira S.P.

Especificações: Pectina não padronizada tipo 8104 - "Rapid Set" extraída de bagaço citrico. De acordo com as especificações constantes no "Food Chemical Codex"

Análises/Propriedades:

- Grau (IFT Method 5-54):	Não padronizado
- Grau de esterificação:	Não padronizado (geralmente 68% - 72%)
- Temperatura de gelificação:	80°C - 95°C
- pH da solução 2% p/p em água destilada a 20°C:	Menos que 3,4
- Ensaio: Ácido galacturônico:	Não menos que 65%* ¹
Anidro galacturonides:	Não menos que 70%*
- Viscosidade em solução (Método 8106/1):	Não padronizada
- Umidade (perdas na secagem):	Não mais que 12%
- Nitrogênio:	Não mais que 0,5%*
- Arsênico:	Não mais que 3 mg/Kg
- Chumbo:	Não mais que 10 mg/Kg
- Zinco:	Não mais que 25 mg/Kg
- Cobre + Zinco (total):	Não mais que 50 mg/Kg
- Metais pesados (total como chumbo):	Não mais que 40 mg/Kg

3.2 - MÉTODOS

3.2.1 - CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO

3.2.1.1 - DETERMINAÇÃO DE pH

O pH foi medido em potenciômetro digital MICRONAL modelo

¹ * - Base seca, descontando-se também as cinzas.

B374 de duas casas decimais, sendo a calibração feita com tampões de pH 7,0 e 4,0 a 25°C. As temperaturas de leitura foram ajustadas, quando necessário, de acordo com as temperaturas das amostras.

3.2.1.2 - DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS (Brix)

De acordo com o USDA, (1985) e Intercit em "Plant Inspectors Manual for Citrus Products", descrito por REED e colaboradores, (1986).

O termo "Brix" é o meio de expressar a porcentagem em peso de sacarose, numa solução pura desse açúcar. Na determinação do Brix por refratômetro em sucos cítricos, que contém outros constituintes além da sacarose, os valores obtidos devem ser corrigidos para compensar o desvio causado pelas características ópticas dos diferentes materiais em solução.

A maior diferença é causada pelo ácido cítrico, que diminui o índice de refração. Assim, deve-se quantificar esse ácido no suco e aplicar um valor de correção à leitura do refratômetro.

O valor de Brix de sucos cítricos, portanto, é o valor obtido por um método refratométrico (escala Brix direta com correção de temperatura) ao qual faz-se a devida correção para ácido cítrico. Este procedimento fornece um valor que é aproximadamente equivalente ao que seria obtido por um hidrômetro e que, para todos os propósitos práticos, representa a porcentagem em peso de açúcar no produto.

O Brix foi lido em refratômetro ABBE, modelo 10471, digital, com correção automática de temperatura. A correção do

ácido cítrico foi feita com base na determinação da acidez titulável, a partir da qual verificam-se os valores tabelados (que podem ser encontrados junto com a metodologia do experimento), para serem acrescentados à leitura do refratômetro.

3.2.1.3 - DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ TITULÁVEL

De acordo com USDA, (1985) e Intercit, descrito por REED e colaboradores (1986).

O teor de ácido é normalmente indicado como de ácido cítrico, os resultados foram expressos em gramas de ácido cítrico por cem gramas de suco.

3.2.2 - DETERMINAÇÕES

3.2.2.1 - DETERMINAÇÃO DA ESTABILIDADE DA TURBIDEZ

Método de transmissão de luz, de acordo com IFAS, descrito por REED e colaboradores (1986).

As amostras foram centrifugadas a 350 x G por dez minutos, sendo que aliquotas dos sobrenadantes foram lidas em um espectrofotômetro BECKMAN modelo DU-70 a 650 nm.

Interpretação para suco de laranja:

Transmitância (%)	Interpretação
0 - 24	nenhuma (grande turbidez)
25 - 35	pouca
36 - 60	definida
61 - 100	extrema (nenhuma turbidez)

3.2.2.2 - ATIVIDADE DE PECTINESTERASE

A atividade de PE foi determinada pelo método utilizado pela FMC Corporation, descrito por REED e colaboradores (1986). Basicamente o método consiste na medida, determinada por titulação, da razão de liberação de grupos carboxila de uma solução de pectina 1,0% com 0,15 M de NaCl a pH 7,0 e 30°C, adicionada de suco de laranja.

A unidade de PE (PEu), definida como a atividade correspondente à liberação de 1 μ mol de grupos carboxila por minuto, foi determinada por grama de sólidos solúveis.

Em caso de utilizar-se suco não concentrado, basta fazer a leitura de seu Brix (temperatura e ácido corrigido). Já utilizando-se suco concentrado é preciso primeiramente reconstituí-lo a 12°Brix.

Junta-se então 10,00 g de amostra a 100 ml da solução de pectina e leva-se à temperatura de teste. Essa solução teste é mantida num recipiente plástico envolto por uma camisa na qual circula água ligada a um banho termostático para que a temperatura não se altere durante a titulação.

Insere-se então o eletrodo de um peagômetro e, mantendo a solução agitada por um agitador magnético, leva-se o pH a um valor ligeiramente superior a 7. Com a atividade da enzima o pH tende a baixar. Estando seu valor exatamente em 7,0, dispara-se o cronômetro e inicia-se a adição de soda, suficiente para que o pH mantenha-se na faixa de 6,9 a 7,1.

A titulação termina quando forem adicionados 5 ml de soda (atividade baixa) ou 10 ml (atividade alta), sendo que o pH deve

estar necessariamente em 7,0 no momento de parar o cronômetro.

O cálculo da atividade é:

$$\frac{PEu \times 10^3}{g \text{ sol. sol.}} = \frac{m \text{ eq. álcali} \times 10^3}{g \text{ sol. sol.}} = \frac{ml \text{ álcali} \times N \text{ álcali} \times 1 \times 10^3}{T(\text{min.}) \times g \text{ amostr.} \times \frac{Brix}{100}}$$

Foram introduzidas as seguintes modificações:

-Para as análises de atividade x temperatura as titulações foram feitas de 0°C a 75°C a intervalos de 5°C, e não apenas na temperatura padrão de 30°C.

-100 ml de pectina são ajustados a pH 7,0 com NaOH 1,0 N e 0,02 N e colocados em banho termostático para que atinjam uma temperatura ligeiramente maior que a de titulação.

-Com o pH da pectina em torno de 7, acrescenta-se 10,00 g de suco refrigerado que é pesado separadamente em beaker de 25 ml, e faz-se um novo ajuste do pH para 7,0 para iniciar a titulação.

Com essas medidas foi possível minimizar o efeito da redução de atividade pela inativação enzimática que ocorria quando se aquecia a amostra juntamente com a pectina, para trabalhar em temperaturas mais altas.

Também foram descontados os valores do "branco" construído, para temperaturas superiores a 50°C. Uma breve explanação sobre o desenvolvimento do método durante o trabalho de pesquisa, que resultou nessas modificações, será feita na parte inicial do próximo capítulo.

3.2.2.3 - RESISTENCIA TERMICA

Para determinação da resistência da enzima a diferentes tratamentos térmicos, o suco das variedades de laranja em estudo foi acondicionado em tubos de ensaio de dimensões 1,4 cm de diâmetro por 14,8 cm de comprimento. Tais tubos já se encontravam previamente aquecidos à temperatura de teste no interior de um banho termostático com agitação, para minimizar o tempo de aquecimento. O tempo de permanência do suco no banho variou de trinta segundos a dez minutos, dependendo da temperatura de teste. As temperaturas foram 60°C, 70°C, 80°C e 90°C. Finalizado o tempo cronometrado, cada tubo era transferido para um banho de água e gelo.

Na determinação da atividade remanescente da enzima, procedeu-se como em 3.2.2.2 (Temperatura de leitura 30°C).

3.2.2.4 - ATIVIDADE ENZIMÁTICA RESIDUAL

"Stevens Cloud Test" de STEVENS, J.W.. Teste qualitativo de atividade residual de PE em sucos cítricos concentrados, descrito por REED e colaboradores, (1986). Resultados:

- 1 - Atividade residual existente → (+)
- 2 - Atividade residual inexistente → (-)

3.2.2.5 - TEOR DE POLPA

De acordo com Fla. D.O.C., descrito por REED e colaboradores (1986). Procedeu-se da mesma maneira que para o teste da estabilidade da turbidez.

3.2.2.6 - CÁLCIO E MAGNÉSIO

Realizado no CTAA (Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos) da EMBRAPA, área de

controle de qualidade em alimentos, utilizando o aparelho DC-Plasma, que utiliza espectrofotometria de absorção atômica.

O preparo das amostras para leitura no aparelho foi feito de acordo com a AOAC - Official Methods of Analysis (1984).

IV - RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 - DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO PARA ATIVIDADE DE PE

O método para determinação da atividade enzimática descrito pela FMC Corp., adotado neste trabalho, necessitou de algumas modificações para uma melhor realização das determinações. Todas elas já foram descritas anteriormente, porém serão relatados agora os motivos que as justificaram.

Da forma como o método é apresentado, de cada titulação obtém-se apenas um volume "x" de NaOH num tempo cronometrado "y". Assim, para analisar os resultados estatisticamente seriam necessárias pelo menos três repetições, preparando-se três amostras idênticas a cada determinação e calculando-se a média, desvio padrão e coeficiente de variação (CV). Porém, podendo contar com um cronômetro digital que, entre outras características, apresenta a função "split" que permite parar o visor em determinado momento sem parar o contador de tempo, foi constatada a possibilidade de se obter com a mesma amostra vários pontos de titulação, com diferentes volumes de NaOH a diferentes tempos.

Calculando-se a regressão linear dos pontos, a inclinação da reta resultante forneceu a variável "Z" onde:

$$Z = \frac{\text{Tempo (min)}^*}{\text{Vol. NaOH (ml)}}$$

* - Tempo em minutos, transformado da forma de minutos e segundos para a forma decimal. Ex: 01:3000 → 1,5000 min.
(mm:ssss)

$$\text{Então: } \text{PEu} \times 10^3 = \frac{\text{N}^{\circ}\text{NaOH}}{\text{g. amostra} \times \frac{\text{Brix}}{100}} \times \frac{1}{Z} \times 10^3 \quad \text{onde:}$$

$$\left. \begin{array}{l} \text{N}^{\circ}\text{NaOH} = 0,0188 \text{ N} \\ \text{g. amostra} = 10,00 \text{ g} \end{array} \right\} \rightarrow K = \frac{0,0188}{10,00} \times 100 \times 10^3 = 188$$

$$\boxed{\frac{\text{PEu} \times 10^3}{\text{g sol. sol.}} = \frac{K}{\text{Brix} \times Z}}$$

Para cada titulação obteve-se cinco pontos com os quais foi feita uma regressão linear, sendo que o coeficiente de correlação (C) foi usado como indicador da boa condução do experimento (para tal $C \geq 0,95$).

Entretanto, restava ainda verificar se poderia haver diferenças significativas entre várias titulações de amostras preparadas de um mesmo lote de suco, nas mesmas condições. Para elucidar esta questão foi montado um experimento no qual dez amostras de um mesmo lote foram preparadas e tituladas identicamente. A cada titulação foi feita uma regressão linear que forneceu uma inclinação " Z_x ". As inclinações Z_x ($Z_1 \dots Z_{10}$) foram analisadas estatisticamente, obtendo-se uma inclinação média " $\bar{Z}$ " e um coeficiente de variação. Os resultados com todos os pontos experimentais obtidos estão na tabela A1, apêndice A.

$$\text{Sumarizando : } \left\{ \begin{array}{l} \bar{Z} = 1,73 \pm 0,07 \\ \text{CV} = 3,83\% \\ \text{Atividade} = 12,53 \times 10^3 \text{ PEu/g s.s} \end{array} \right.$$

O CV dá uma idéia da precisão do experimento. De acordo com GOMES (1970), pode-se considerar os CVs baixos quando inferiores a 10%, médios entre 10% e 20%, altos entre 20% e 30%, e muito altos quando superiores a 30%.

Tendo em vista o CV obtido de 3,83% em dez repetições do experimento, assumimos que, da forma como foi conduzido, ele é suficientemente preciso para os propósitos deste trabalho, sem que sejam necessárias várias repetições.

Outras modificações introduzidas dizem respeito às análises de atividade x temperatura:

-Foram feitas titulações de 0°C a 75°C a intervalos de 5°C. A temperatura limite inferior foi determinada pela formação de cristais de gelo no meio, impossibilitando a determinação. Já o limite superior foi determinado como o ponto máximo onde era possível manter a temperatura de reação constante durante a titulação pois, apesar do meio estar envolto por uma camisa conectada a um banho termostático, a face superior era mantida aberta para possibilitar a titulação. Assim a temperaturas mais altas, a troca de calor com o ar impedia que a temperatura do meio ficasse constante.

-Para temperaturas superiores a 50°C, foi descontado o efeito da degradação da pectina pelo álcali, que faz com que ocorra um abaixamento do pH, além daquele devido a ação enzimática (SCAMPARINI e BOBBIO, 1982) e que também é detectada pelo peagômetro durante a titulação. Foi contruída uma curva "branco" onde a pectina é aquecida com água destilada no lugar do suco e feita a titulação. A tabela A2 do apêndice A mostra os dados relacionados à obtenção do branco e a figura 13 apresenta uma compilação desses resultados.

-Para temperaturas acima de 50°C foi definido o termo "atividade líquida" (AL) que é o resultado da subtração da atividade obtida (AO) da titulação de uma amostra dada, menos a atividade devida à degradação da pectina pelo álcali, aqui chamada "atividade do branco" (AB).

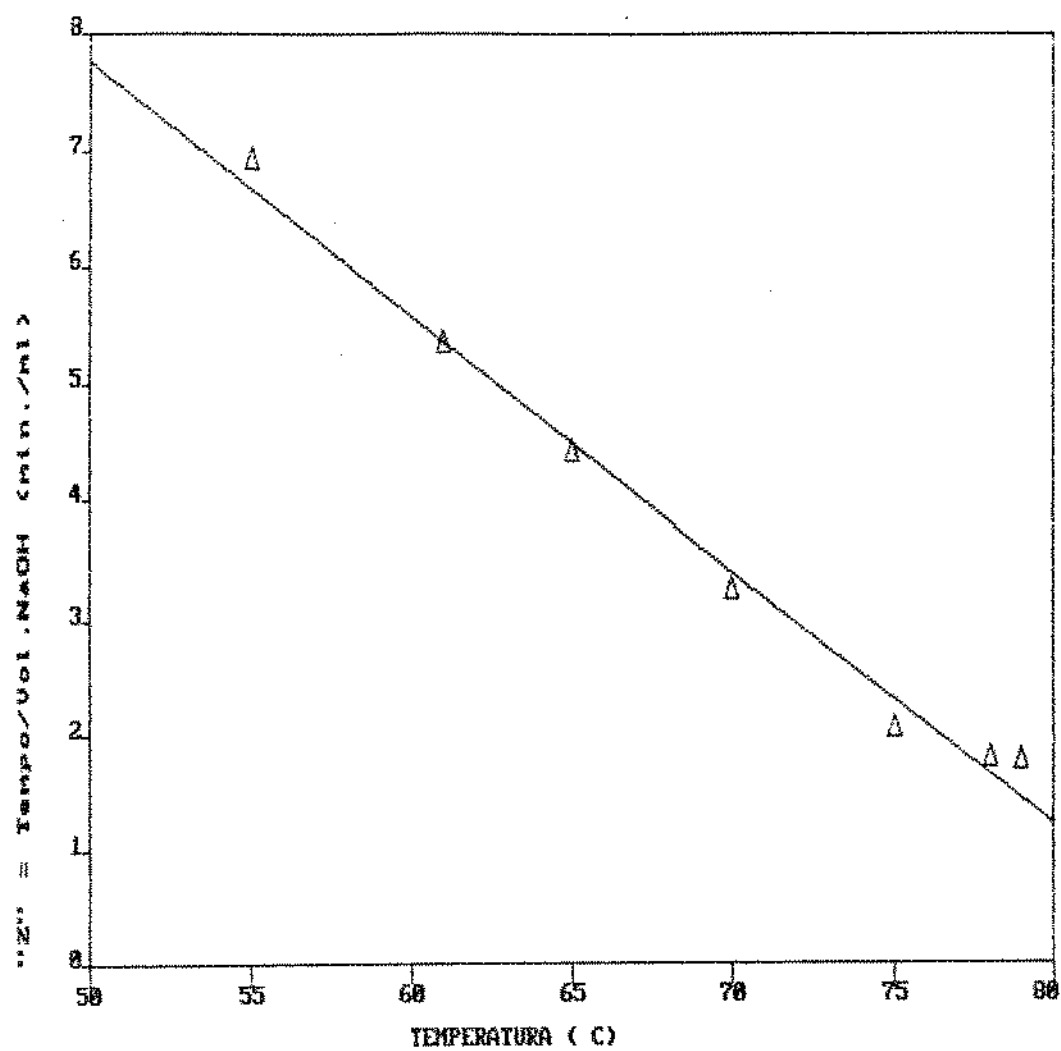


Figura 13 - "Branco" - Correção da atividade de PE para temperaturas superiores a 50°C

-Também para altas temperaturas havia o efeito da inativação enzimática parcial que ocorria durante o tempo necessário para levar as amostras às temperaturas de teste. Com as alterações introduzidas, aquecendo primeiramente a solução de pectina à temperatura de teste e levando-a a pH 7.0 antes da adição da amostra, foi possível minimizar este efeito, obtendo assim melhores resultados. A figura 14 apresenta uma comparação entre dois experimentos realizados antes e após as modificações na metodologia.

4.2 - ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM FUNÇÃO DA MATURAÇÃO DA FRUTA E DO GRAU DE EXTRAÇÃO DO SUCO

Devido à constatada influência de diversos fatores na atividade da enzima presente no suco, alguns passivos de serem controlados, outros não, foi feito um estudo onde procurou-se verificar como os fatores mais facilmente controláveis e importantes para a indústria de suco interferem na atividade enzimática final do produto.

O primeiro deles é o estágio de maturação das frutas no momento da extração. Para que fosse possível otimizar esse estudo houve necessidade de que os outros fatores interferentes fossem mantidos na forma mais constante possível. Assim foi escolhida uma variedade de laranja dentre as estudadas, a Pera Coroa, e todas as frutas foram colhidas de uma mesma árvore.

Procurou-se extrair o suco da forma mais homogênea possível em todas as vezes. Além disso cada lote era resultado da extração do suco de três laranjas para compensar variações individuais que cada fruta poderia apresentar. Um número maior de frutos por extração era inviável pois poderiam faltar amostras para as últimas análises.

Laranja Pera Rio

— sem modific.
no metodo metodo
modificado

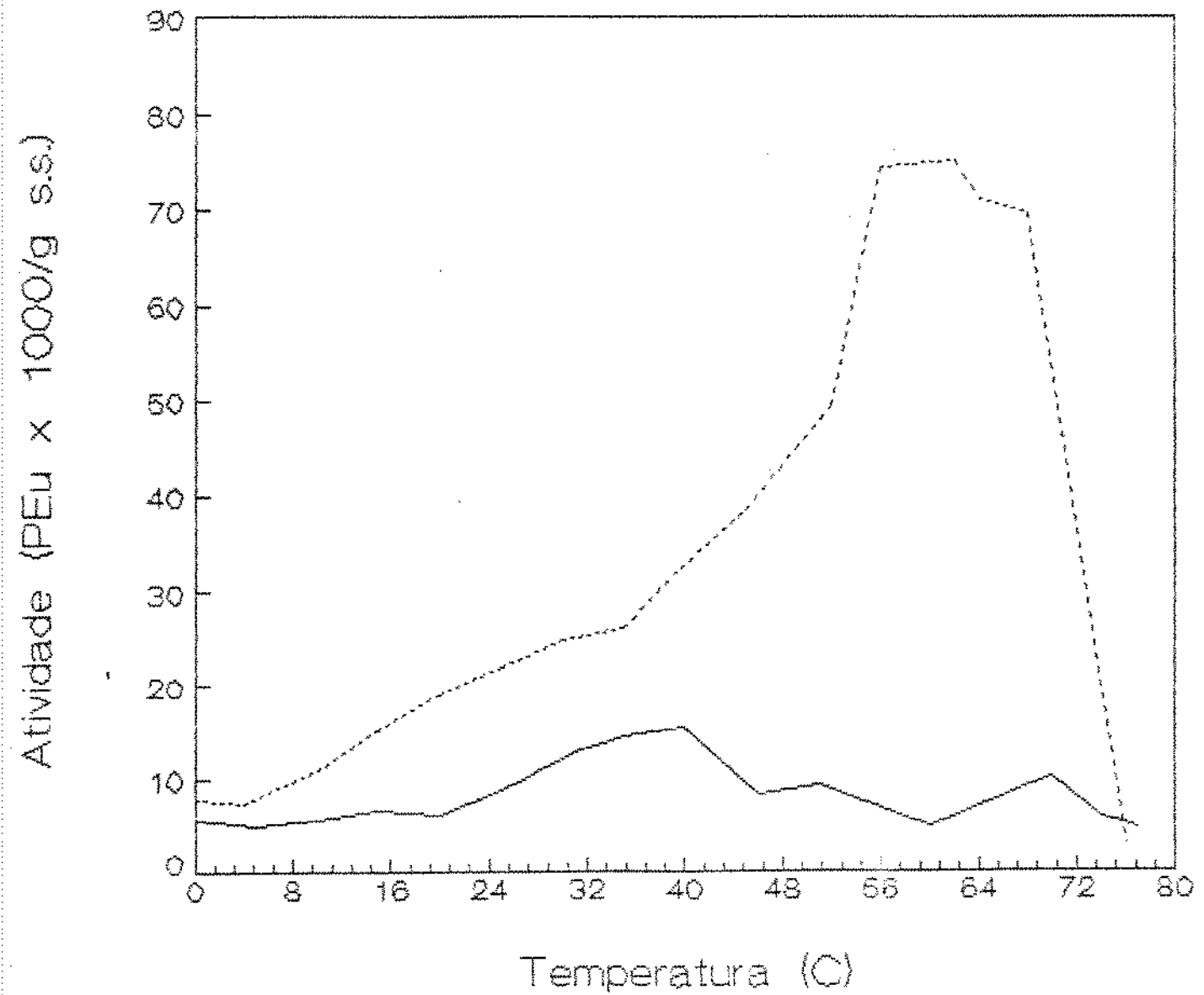


Figura 14 - Atividade de PE x temperatura encontrada em suco de laranja antes e depois de modificações na metodologia

Os resultados da atividade de Pe em função da maturação estão descritos na tabela 19 e graficados na figura 15.

Tabela 19 - Atividade de PE x maturação - Laranja Pera Coroa

Amostra 1	{	Brix = 8,52°	ml (NaOH)	t (min.)
		Acidez = 9,20 g/100g	1,00	0,5372
			2,00	1,0494
			3,00	1,6242
			4,00	2,1700
			5,00	2,7136
Rel. Brix/acid. = 2,7:1		C=0,9999 Z=0,5479		
		A=40,31x10 ³ PEu/gss		

Amostra 2	{	Brix = 8,71°	ml (NaOH)	t (min.)
		Acidez = 1,07 g/100g	0,50	0,5019
			1,00	1,0206
			1,50	1,5064
			2,00	1,9922
Rel. Brix/acid. = 8,1:1	2,50	2,3844		
	C=0,9988 Z=0,9479			
		A=22,59x10 ³ PEu/gss		

Amostra 3	{	Brix = 9,22°	Acidez = 1,16 g/100g	Rel. Brix/acid. = 8,4:1	ml (NaOH)	t (min.)
					0,50	0,6422
					0,75	0,9547
					1,00	1,2328
					1,25	1,5209
					1,50	1,8467
					C=0,9993	Z=1,1898
					A=17,14x10 ³ PEu/gss	

Amostra 4	{	Brix = 8,81° Acidez = 1,04 g/100g Rel. Brix/acid. = 8,5:1	ml (NaOH)	t (min.)
			0,50	0,6547
			1,00	1,3739
			1,25	1,7064
			1,75	2,0400
			2,00	2,4308
			C=0,9998	Z=1,3944
			A=15,62x10 ³ PEu/gss	

Amostra 5	{	Brix = 8,97° Acidez = 0,87 g/100g Rel. Brix/acid. = 10,3:1	ml (NaOH)	t (min.)
			0,50	0,6530
			0,75	1,0217
			1,00	1,3522
			1,25	1,6644
			1,50	2,0133
			C=0,9997	Z=1,3446
			A=15,59x10 ³	PEu/gss

Tabela 19 - Continuação

Amostra 6 { Brix = 9,16°
Acidez = 0,75 g/100g
Rel. Brix/acid. = 12,2:1

ml(NaOH)	t (min.)
0,25	0,4359
0,50	0,8309
0,75	1,2205
1,00	1,6058
1,25	2,0007
C=0,9994 Z=1,6519	
A=12,43x10 ³ PEu/gss.	

Amostra 7 { Brix = 9,91°
Acidez = 0,50 g/100g
Rel. Brix/acid. = 19,8:1

ml(NaOH)	t (min.)
0,50	0,5044
1,00	1,1442
1,50	1,7231
2,00	2,3414
2,50	2,9011
C=0,9999 Z=1,1741	
A=16,16x10 ³ PEu/gss.	

O experimento mostrou uma atividade enzimática no suco que foi maior no início da safra, quando a relação Brix/acidez é menor, diminuindo em estágios de maturação mais avançados.

O gráfico não mostra uma curva com um padrão definido, sendo que não é possível fazer um bom ajuste dos pontos experimentais a uma equação que os caracterize. Essas variações provavelmente são em parte consequência da metodologia utilizada e erros a ela inerentes e, em parte devido a diferenças dos frutos entre si, embora produtos de uma mesma árvore.

Para contornar tais problemas seria necessário um experimento mais longo, no qual fosse possível obter e analisar mais frutos de uma mesma árvore, com várias repetições e inclusive de árvores vizinhas para conseguir dados comparativos. Tal estudo, porém, devido ao longo tempo e esforços necessários para sua realização, foi inviável. Entretanto para todos os propósitos práticos desta pesquisa, foi possível observar uma tendência que indica uma maior atividade enzimática presente no suco de laranjas bem verdes, diminuindo rapidamente no início e variando um pouco ao longo da safra.

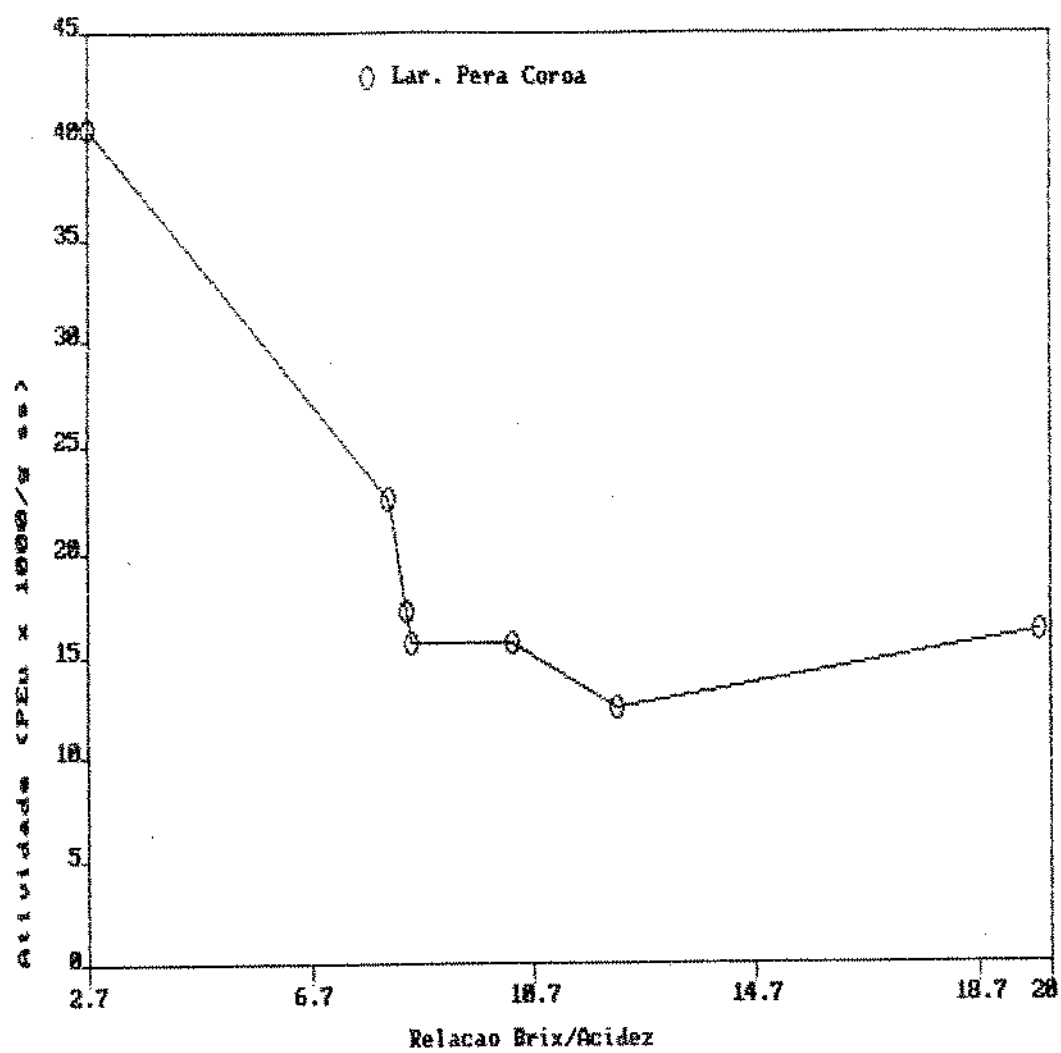


Figura 15 - Atividade de PE versus maturação das frutas

O segundo experimento foi feito para verificar a influência do grau de extração de suco na atividade resultante.

Sabe-se que um maior grau de extração implica numa maior incorporação de elementos do albedo e, em casos extremos, do flavedo no suco. Assim foram preparadas três amostras de suco de laranja Pêra Coroa, sendo a primeira obtida com uma extração normal, a segunda com a remoção cuidadosa da casca e do albedo antes da obtenção do suco e triturando-se os gomos. A terceira com uma trituração das frutas, incorporando elementos do albedo e até da casca. Os resultados estão na tabela 20.

Tabela 20 - Atividade de PE x extração - Laranja Pêra Coroa

Amostra 1
Extração Normal { Brix = 10,52°
Acidez = 0,69 g/100g
Rel. Brix/acid. = 16,7:1

ml (NaOH)	t (min.)
0,50	0,3872
1,00	0,7739
1,50	1,1144
2,00	1,4897
2,50	2,8706
C=0,9999 Z=0,7498	
A= 24,09 PEu/g s.s.	

Amostra 2
Extração com remoção do albedo { Brix = 11,02°
Acidez = 0,60 g/100g
Rel. Brix/acid. = 18,4:1

ml (NaOH)	t (min.)
1,00	0,5939
2,00	1,1031
3,00	1,6758
4,00	2,2258
5,00	2,7583
C=0,9999 Z=0,5572	
A= 30,62 PEu/g s.s.	

Amostra 3
Extração excessiva { Brix = 11,54°
Acidez = 0,68 g/100g
Rel. Brix/acid. = 17,0:1

ml (NaOH)	t (min.)
1,00	0,4717
1,50	0,7989
2,00	1,0039
2,50	1,1983
3,00	1,5108
C=0,9981 Z=0,5075	
A= 32,10 PEu/g s.s.	

Pode-se verificar um aumento progressivo na atividade enzimática resultante do suco quanto mais elementos forem a ele

incorporados. No caso dois houve um acréscimo de componentes da parte mais interior da laranja, inclusive sementes, e no caso três pode-se considerar o suco como praticamente da laranja toda.

Entretanto se o caso três for tido como aquele no qual se obtém o máximo de atividade possível no suco resultante, ou seja 100%, constata-se que com a extração que normalmente é feita o suco já apresenta 75% dessa atividade.

Assim, sob a ótica da atividade de PE em suco de laranja, a regulação da extratora pode ser responsável por pequenas variações, mas não influi decisivamente nas características finais do produto.

4.3 - RESULTADOS DE ATIVIDADE VERSUS TEMPERATURA

As tabelas A3 a A6 no apêndice A mostram as atividades enzimáticas de todas as variedades estudadas para os diferentes valores de temperatura, e também as análises estatísticas dos dados. A tabela 21 apresenta estes dados.

O comportamento das enzimas presentes nos diferentes sucos pode ser visualizado, de forma comparativa, na figura 16.

As curvas indicam, numa primeira análise, um comportamento similar para as quatro variedades em estudo, com atividades crescentes com o aumento da temperatura, até atingir um valor máximo em torno de 60°C e decrescer rapidamente a temperaturas superiores. Entretanto, em valores absolutos, as atividades que as quatro variedades apresentam diferem bastante, sendo os máximos de atividade encontrados de $65,17 \times 10^3$ PEu/g ss, $75,13 \times 10^3$ PEu/g ss, $154,57 \times 10^3$ PEu/g ss e $169,47 \times 10^3$ PEu/g ss para as laranjas Coroa, Rio, Natal e Valência respectivamente.

Tabela 21- Atividade enzimática x temperatura

T(°C)	ATIVIDADE (PEu x 10 ³ /g s.s.)			
	Lar. PERA RIO	Lar. PERA COROA	Lar. NATAL	Lar. VALENCIA
0	7,70	8,10	-	17,89
2	-	-	14,24	-
4	7,42	-	-	-
5	-	8,22	15,05	-
7	-	-	-	23,31
10	11,00	10,78	21,00	-
11	-	11,70	-	-
12	-	-	-	25,96
15	15,38	14,83	-	29,49
18	-	-	23,81	-
20	19,18	18,75	30,33	43,81
25	21,93	17,44	36,53	47,66
30	25,04	18,70	51,56	54,20
34	-	20,75	52,43	-
35	26,26	-	-	64,40
39	31,79	25,03	-	76,54
41	-	-	75,21	-
44	-	29,99	-	90,90
45	38,35	-	80,03	-
49	-	-	-	107,98
50	-	-	88,47	-
52	49,36	34,26	-	-
54	-	-	103,62	144,57
56	74,33	44,47	-	-
58	-	-	144,23	-
60	-	65,17	154,57	151,96
62	75,13	-	-	-
63	-	-	130,79	-
64	71,12	64,07	-	169,47
65	-	-	129,93	-
68	69,64	-	-	-
69	-	28,84	-	124,13
70	-	-	-	-
73	-	-	22,06	-
74	-	0,99	-	-
75	-	-	10,28	14,32
76	3,09	-	-	-

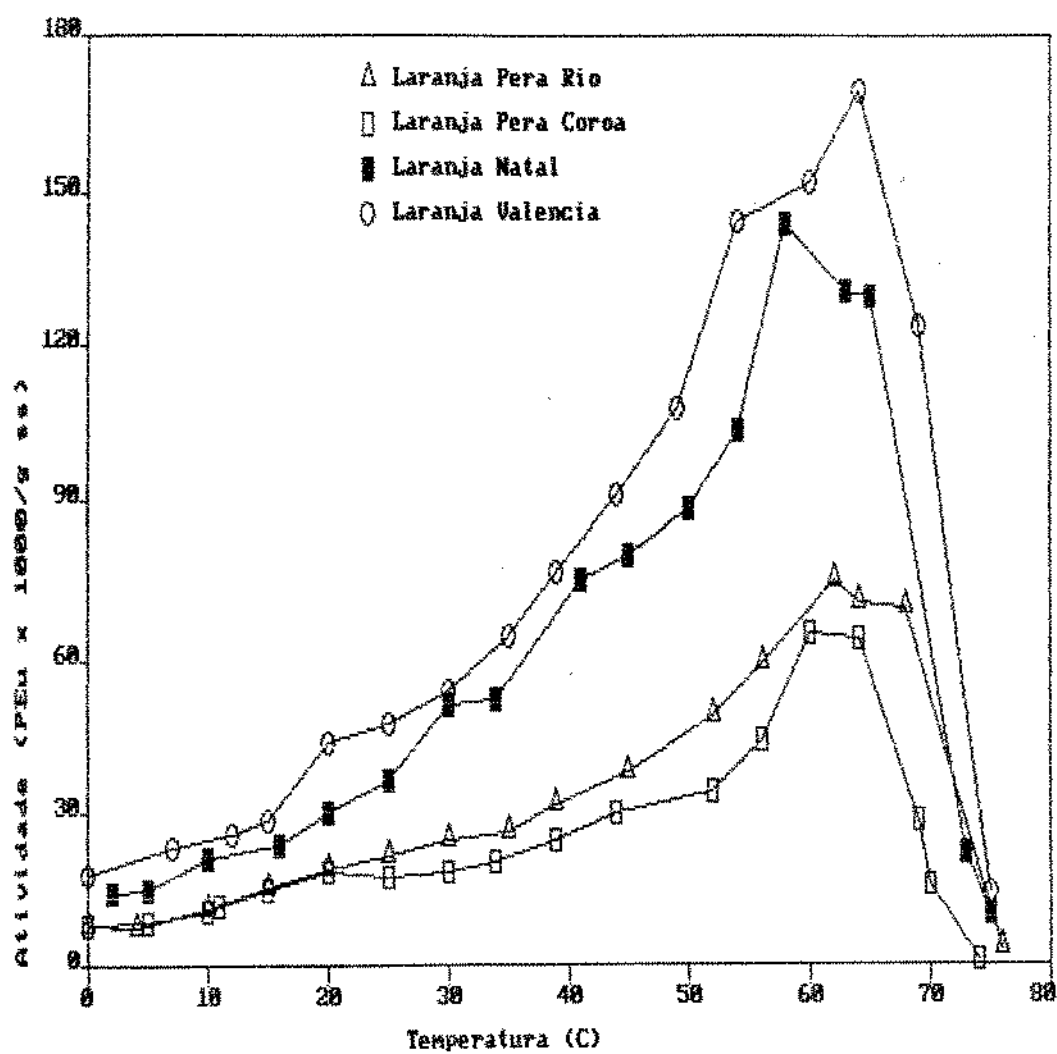


Figura 16 - Atividade de PE versus temperatura

Como foi demonstrado anteriormente, as temperaturas ótimas para as enzimas são muito dependentes do tempo necessário para a prova de determinação de atividade; mais longo o tempo a altas temperaturas, mais baixa a temperatura ótima e menor seu valor absoluto, pois ocorre uma inativação parcial das enzimas. Portanto os resultados encontrados são válidos para as condições utilizadas, onde procurou-se minimizar tal influência. Sem este critério os resultados podem ser completamente diversos.

Levando-se em conta unicamente a influência da atividade da enzima na desestabilização da turbidez do suco de laranja, poderia-se esperar que a ordem acima encontrada seria também a que forneceria sucos mais ou menos estáveis. Assim as laranjas Pêra, Coroa e Rio, forneceriam os sucos mais estáveis e as laranjas Natal e Valência os menos estáveis. Porém, sabendo-se da complexidade do mecanismo que leva ao colapso do sistema coloidal, essa afirmação não pode ser confirmada sem a realização dos testes de estabilidade. Além disso os resultados obtidos são válidos para os lotes em questão, sendo, neste ponto, sua generalização prematura.

Outra constatação que pode ser feita a partir das curvas é a presença de mais de uma forma da enzima, ou seja de isozimas, pelo aparecimento de patamares a diferentes temperaturas. Além da máxima atividade a 60°C, podem ser visualizados em todas as variedades outros patamares em temperaturas próximas a 30°C e, nas variedades Pêra Coroa e Natal também entre 40°C e 50°C. A presença de diferentes frações enzimáticas está de acordo com VESTEEG e colaboradores, (1978 e 1980) que isolaram três frações em laranjas "Navel", PE I, PE II e PE de alto peso molecular.

Para determinar a relação da temperatura com a atividade de PE foram equacionados os dados da tabela anterior entre 0°C e 60°C, onde há um aumento na atividade enzimática. As equações de

regressão que melhor descrevem o fenômeno são:

$$\text{Laranja Pêra Rio:} \quad \begin{cases} \ln \text{PEu} = 14,65 - 3463(1/T) \\ \text{Correlação} = - 0,9904 \\ \text{Energia de ativação} = 28886 \text{ joules/mol} \end{cases}$$

$$\text{Laranja Pêra Coroa :} \quad \begin{cases} \ln \text{PEu} = 12,34 - 2816(1/T) \\ \text{Correlação} = - 0,9782 \\ \text{Energia de ativação} = 23489 \text{ joules/mol} \end{cases}$$

$$\text{Laranja Natal:} \quad \begin{cases} \ln \text{PEu} = 16,00 - 3684(1/T) \\ \text{Correlação} = - 0,9961 \\ \text{Energia de ativação} = 30730 \text{ joules/mol} \end{cases}$$

$$\text{Laranja Valência :} \quad \begin{cases} \ln \text{PEu} = 15,15 - 3365(1/T) \\ \text{Correlação} = - 0,9964 \\ \text{Energia de ativação} = 28069 \text{ joules/mol} \end{cases}$$

Onde: 1) $\ln \text{PEu}$ é o logaritmo neperiano da atividade enzimática.

2) $1/T$ é a recíproca da temperatura absoluta em graus Kelvin.

Estes valores são similares aos encontrados por WICKER e colaboradores (1987) para laranjas Valência onde:

$$\ln \text{PEu} = 14,3446 - 3415(1/T).$$

Usando o modelo de Arrhenius (MOORE, 1976 e GUTFREUND, 1968) a energia de ativação foi calculada usando-se as inclinações das retas resultantes (figura 17).

$$\text{Tem-se que: } \frac{d \ln K'}{dT} = \frac{E_a}{R T^2} \Rightarrow (\text{integrando}) \Rightarrow$$

$$\Rightarrow \ln K' = \ln A + \frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T} \right) \quad \text{onde (neste caso) :}$$

$K' = \text{PEu}$; $\ln A = \text{constante}$; $E_a = \text{energia de ativação}$

$R = \text{constante} = 8,3414 \text{ Joule K}^{-1} \text{mol}^{-1}$

∴ E_a = inclinação da reta x R

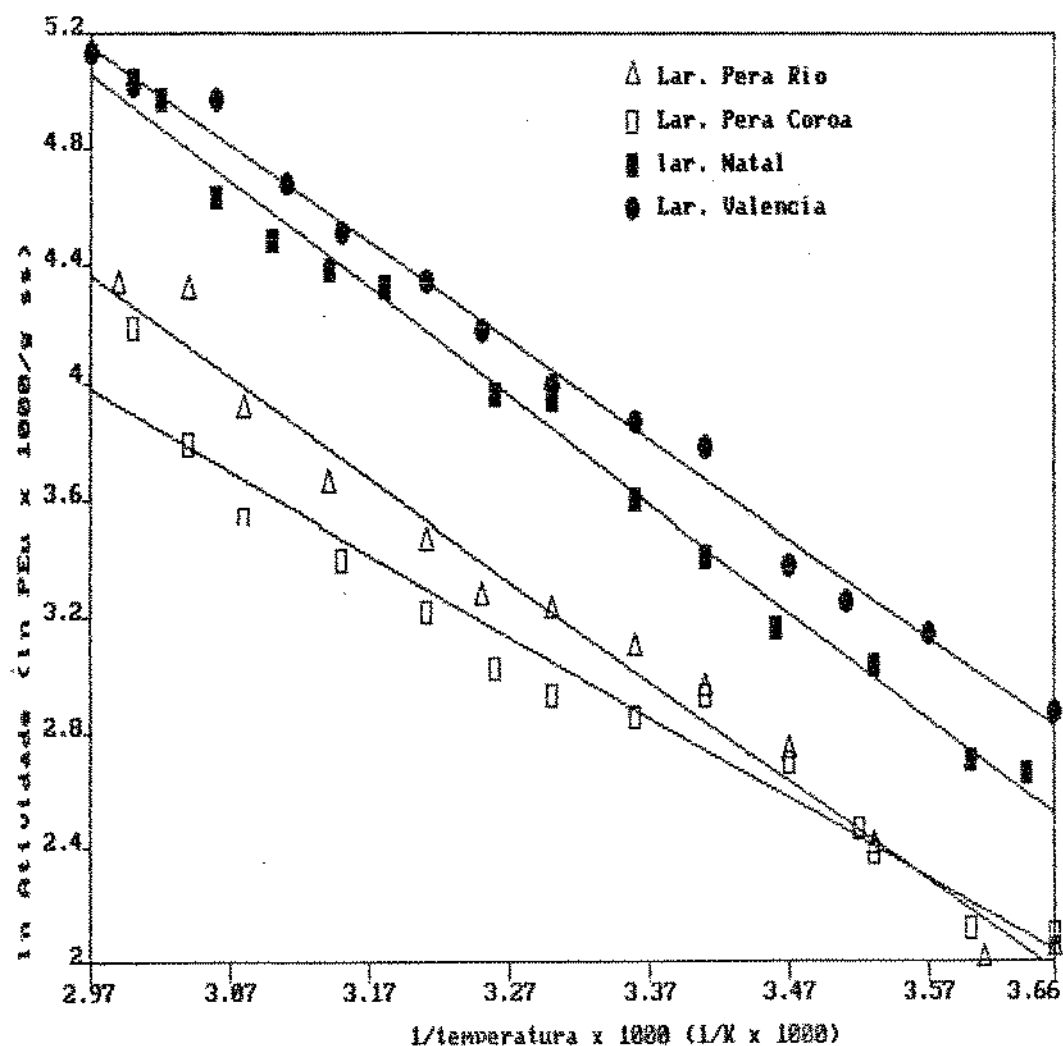


Figura 17 - Curva de Arrhenius do efeito da temperatura na atividade de PE.

Estes dados têm aplicação tecnológica para estimar a atividade de PE em suco a qualquer temperatura onde a relação linear é válida. Deve ser lembrado que o suco apresenta uma mistura de três ou mais enzimas. Assim as frações enzimáticas purificadas a partir do suco apresentarão valores diferentes.

4.4 - RESULTADOS DE RESISTÊNCIA TÉRMICA

Os experimentos de resistência térmica visaram caracterizar, através da determinação da atividade residual da enzima, sua resistência ao emprego de calor para inativá-la.

4.4.1 - LARANJA VALENCIA

Para a variedade Valência foram feitas leituras a três temperaturas, 30°C, 60°C e 70°C, pois procurava-se determinar se a leitura da atividade residual na temperatura padrão de teste (30°C) poderia acarretar em resultados errôneos por não estar no ponto ótimo de atividade. Assim, na primeira das variedades no qual este experimento foi feito, a Valência, foi elucidada também esta questão usando três temperaturas: a padrão, a de atividade enzimática máxima encontra e uma comparativa. Os resultados e análises estatísticas estão no apêndice A tabelas A7 a A18, e de forma resumida na tabela 22 a seguir.

Tabela 22 - Resistência Térmica de PE - Laranja Valência

Tratamento a 60°C	ATIVIDADE (PEu x 10 ³ / g ss)		
	Leit. a 30°C	Leit. a 60°C	Leit. a 70°C
Tempo (min)			
0,0	54,20	176,87	124,13
1,0	49,86	151,96	94,14
3,0	33,28	102,19	89,45
5,0	22,06	67,17	48,00
7,0	20,32	46,13	38,82
10,0	11,21	45,44	33,41

Tabela 22 - Continuação

Tratamento a 70°C		ATIVIDADE (PEu x 10 ³ / g ss)	
Tempo (min)	Leit. a 30°C	Leit. a 60°C	Leit. a 70°C
0,0	54,20	176,87	124,13
1,0	34,46	115,20	78,28
3,0	4,83	18,22	17,05
5,0	4,33	13,89	12,65
7,0	3,60	9,40	11,85
10,0	3,03	8,16	11,79

Tratamento a 80°C		ATIVIDADE (PEu x 10 ³ / g ss)	
Tempo (min)	Leit. a 30°C	Leit. a 60°C	Leit. a 70°C
0,0	24,68	112,20	40,79
1,0	8,46	20,79	13,92
2,0	1,64	8,10	5,74
3,0	-	4,51	4,49
5,0	1,22	3,03	2,87
7,0	0,00	4,07	3,01

Tratamento a 90°C		ATIVIDADE (PEu x 10 ³ / g ss)	
Tempo (min)	Leit. a 30°C	Leit. a 60°C	Leit. a 70°C
0,0	24,68	112,20	40,79
0,5	7,90	26,67	21,28
1,0	0,68	5,08	6,42
2,0	0,00	0,67	0,56

Estes resultados estão graficados nas figuras 18 a 21. Observa-se que os dados mais representativos são os de leitura a 60°C e 70°C que conseguem detectar pequenas atividades residuais nos tempos de tratamento mais prolongados, nos quais o teste a 30°C já não mostra atividade. A temperatura de 60°C foi a escolhida então para todas as leituras posteriores, por ser a ótima encontrada para a enzima.

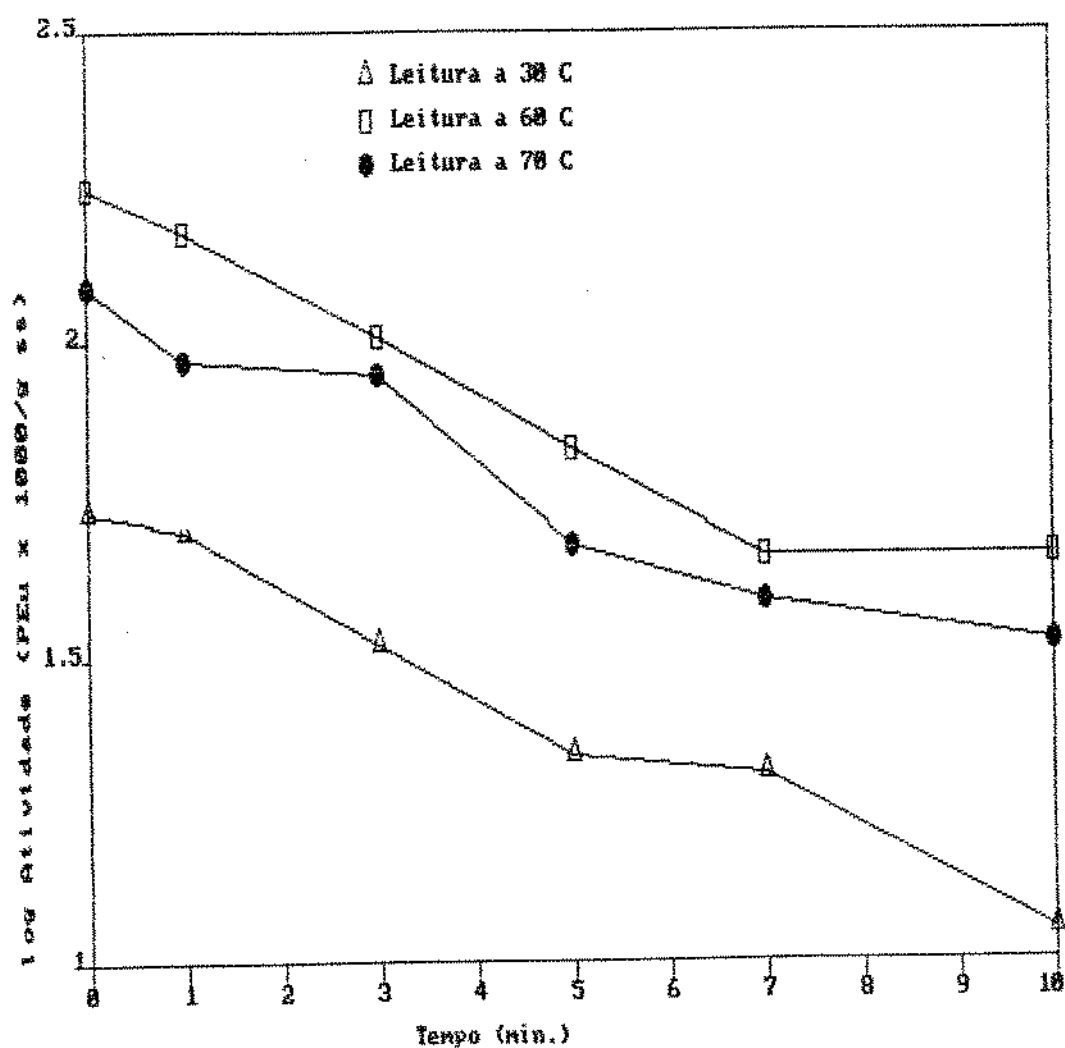


Figura 18 - Resistência Térmica de PE a 60°C - laranja Valência

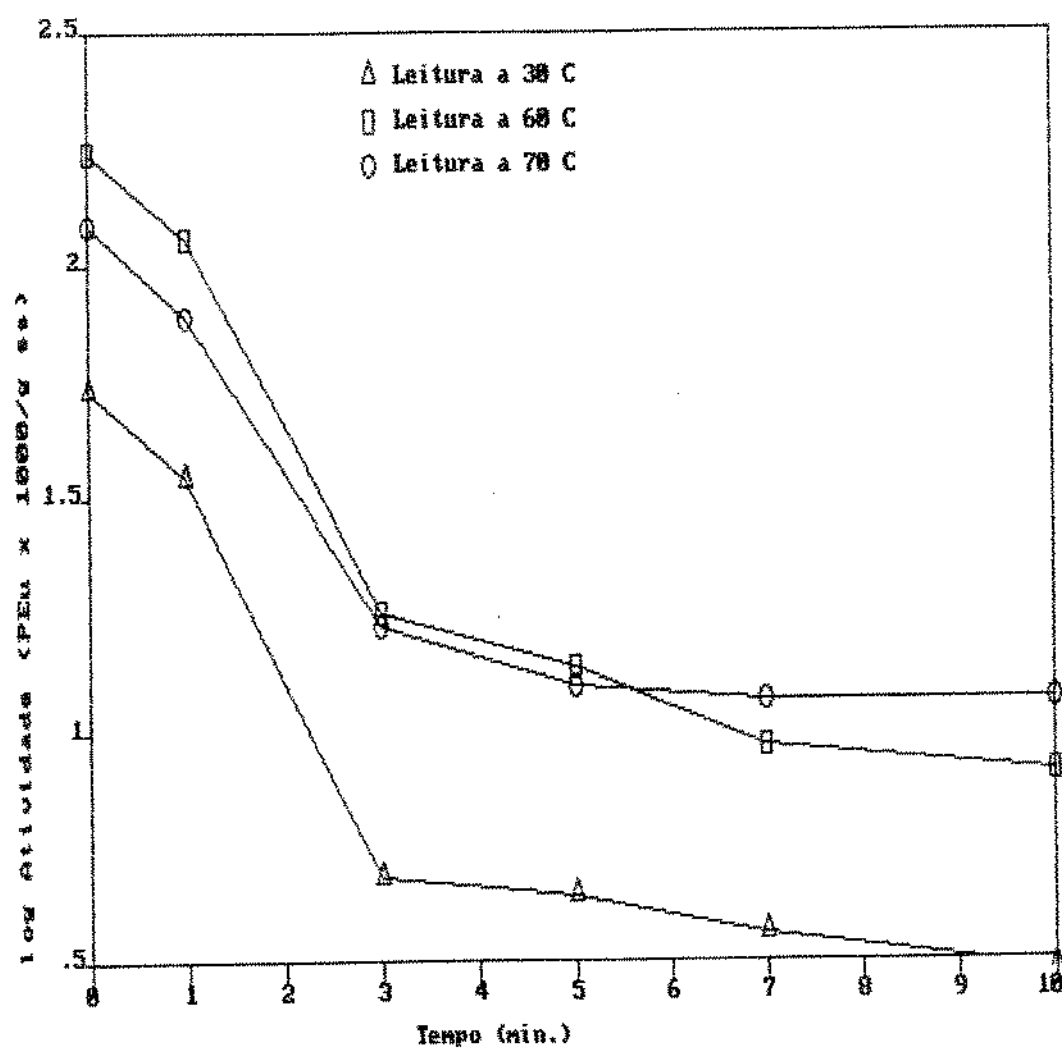


Figura 19 - Resistência Térmica de PE a 70°C - laranja Valência

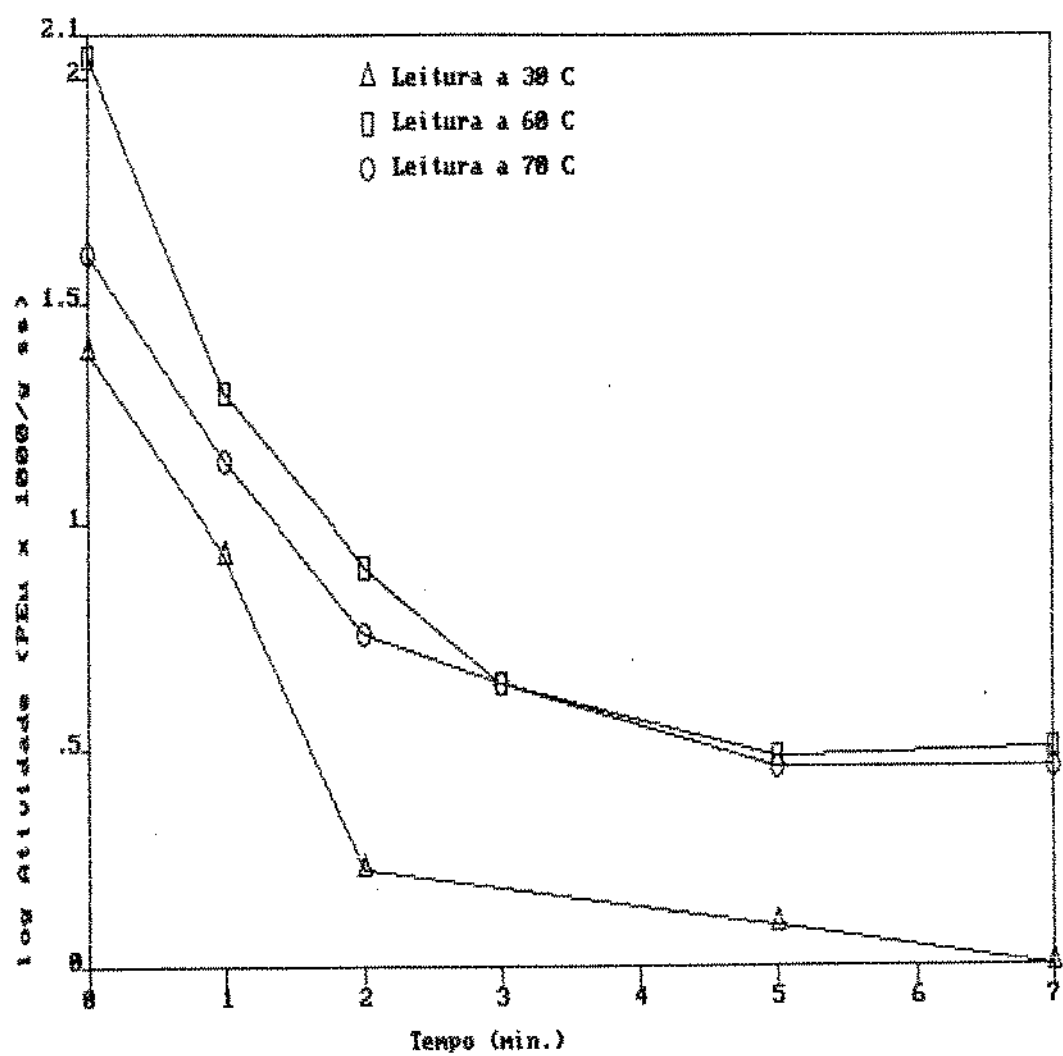


Figura 20 - Resistência Térmica de PE a 80°C - laranja Valência

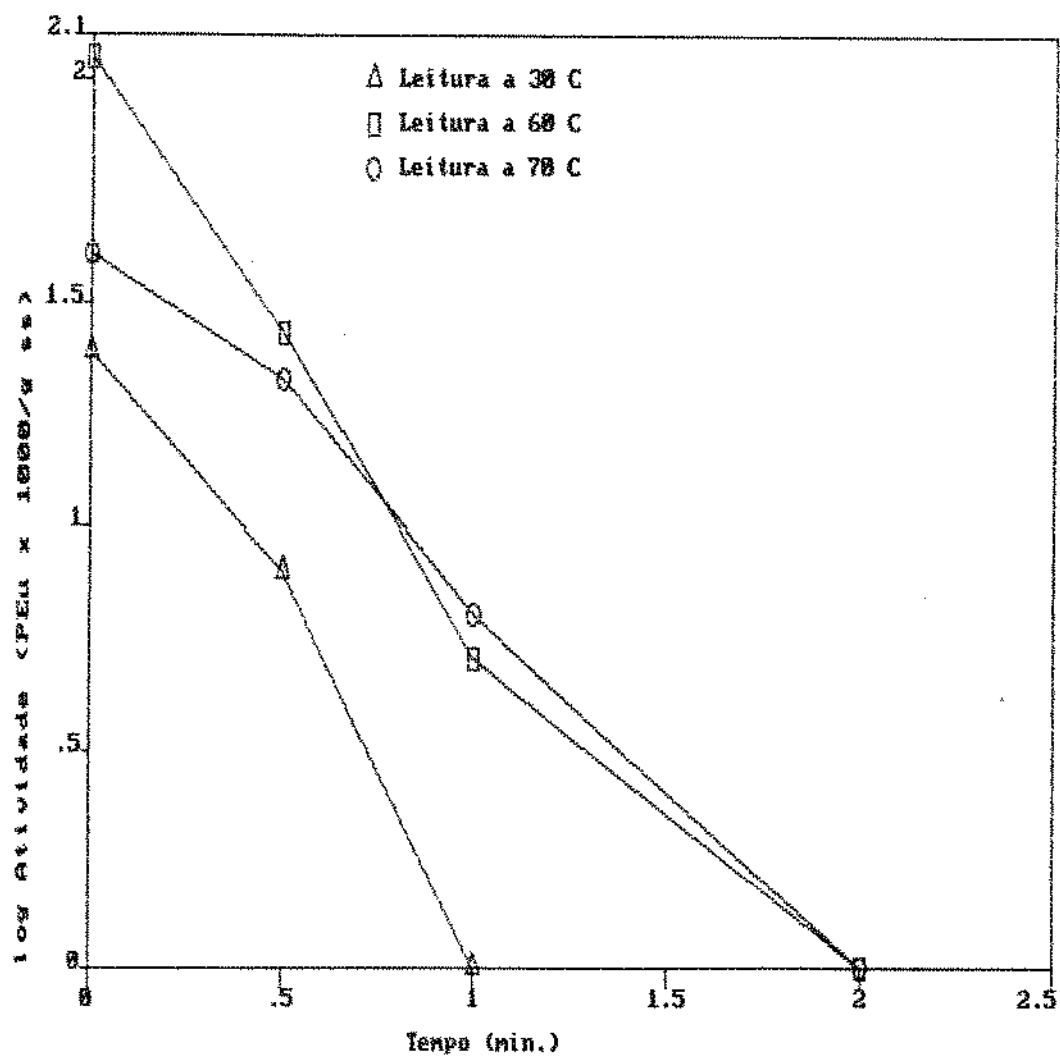


Figura 21 - Resistência Térmica de PE a 90°C - laranja Valência

4.4.2 - LARANJA PÊRA RIO

Os resultados e análises estatísticas estão no apêndice A, tabelas A19 a A22, e de forma resumida na tabela 23.

Tabela 23 - Resistência Térmica de PE - laranja Pêra Rio

Leitura a 60°C		ATIVIDADE (PEu x 10 ³ / g ss)			
Tempo (min)	Trat. 60°C	Trat. 70°C	Trat. 80°C	Trat. 90°C	
0,0	75,13	75,13	75,13	75,13	
0,5	-	55,88	53,59	39,03	
1,0	72,03	54,44	18,34	13,97	
1,5	-	-	-	1,84	
2,0	-	-	-	0,00	
3,0	56,38	12,78	2,94	-	
5,0	26,90	8,44	2,75	-	
10,0	12,81	5,27	2,27	-	

Os resultados desta tabela estão graficados na figura 22.

4.4.3 - LARANJA PÊRA COROA

Os resultados e análises estatísticas estão nas tabelas A23 a A26 do apêndice A e de forma resumida na tabela 24.

4.4.4 - LARANJA NATAL

Os resultados e análises estatísticas estão nas tabelas A27 a A30 do apêndice A e de forma resumida na tabela 25.

Tabela 24 - Resistência Térmica de PE- laranja Péra Coroa

Leitura a 60°C		ATIVIDADE (PEu x 10 ³ / g ss)			
Tempo (min)	Trat. 60°C	Trat. 70°C	Trat. 80°C	Trat. 90°C	
0,0	42,85	42,85	42,85	42,85	
0,5	-	-	21,85	10,19	
1,0	28,36	6,21	6,11	1,42	
1,5	-	-	-	0,00	
2,0	-	4,06	-		
3,0	5,38	3,02	0,18		
4,0	-	2,24	0,00		
5,0	4,29	-	-		
7,0	3,32	1,68	-		
10,0	2,83	0,00	-		

Os resultados desta tabela estão graficados na figura 23.

Tabela 25 - Resistência Térmica de PE - laranja Natal

Leitura a 60°C		ATIVIDADE (PEu x 10 ³ / g ss)			
Tempo (min)	Trat. 60°C	Trat. 70°C	Trat. 80°C	Trat. 90°C	
0,0	154,57	154,57	154,57	154,57	
0,5	128,33	-	110,04	45,59	
1,0	127,00	112,45	29,99	3,46	
1,5	-	-	-	0,00	
2,0	-	-	-		
3,0	91,07	29,89	8,96		
5,0	76,55	17,28	7,38		
7,0	-	14,56	6,37		
10,0	63,38	-	-		

Os resultados desta tabela estão graficados na figura 24.

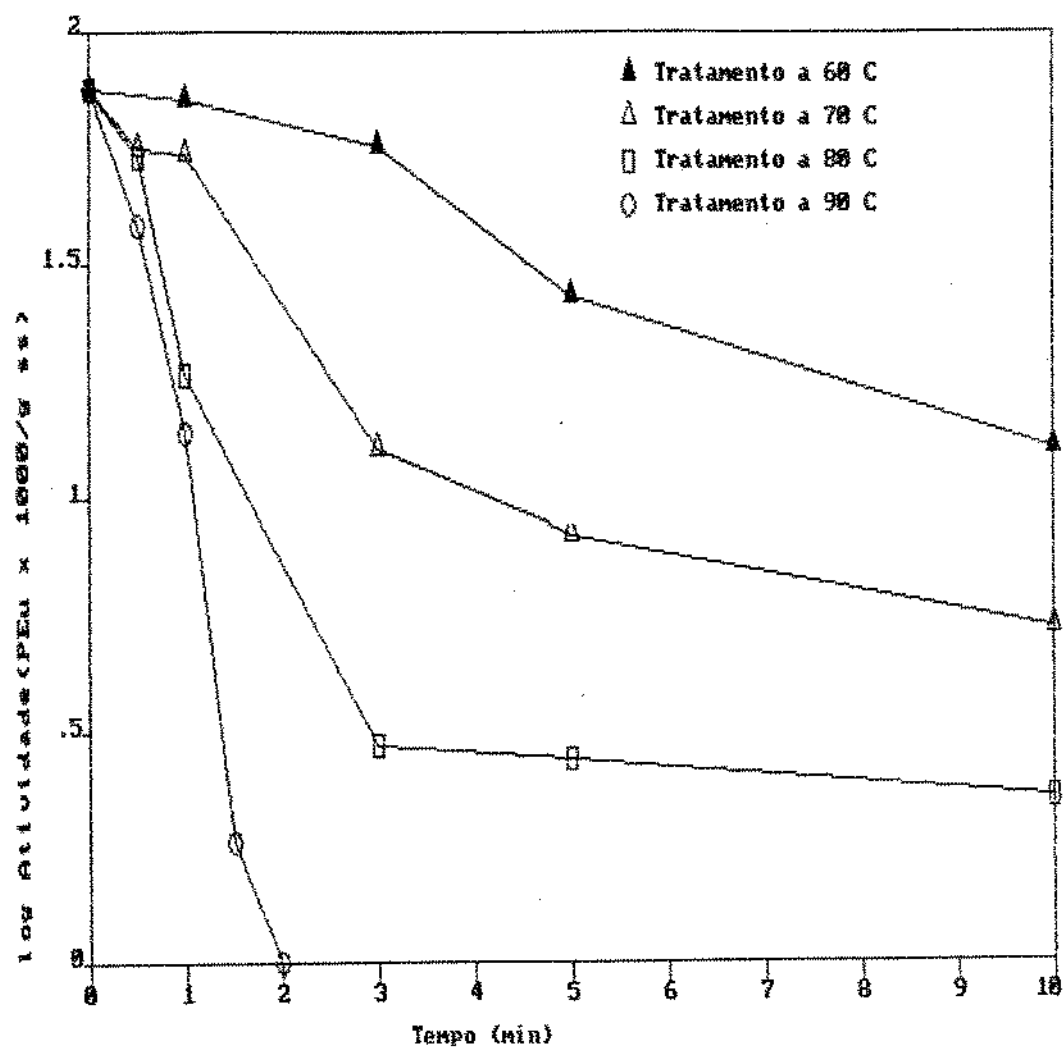


Figura 22 - Resistência Térmica de PE - laranja Pêra Rio

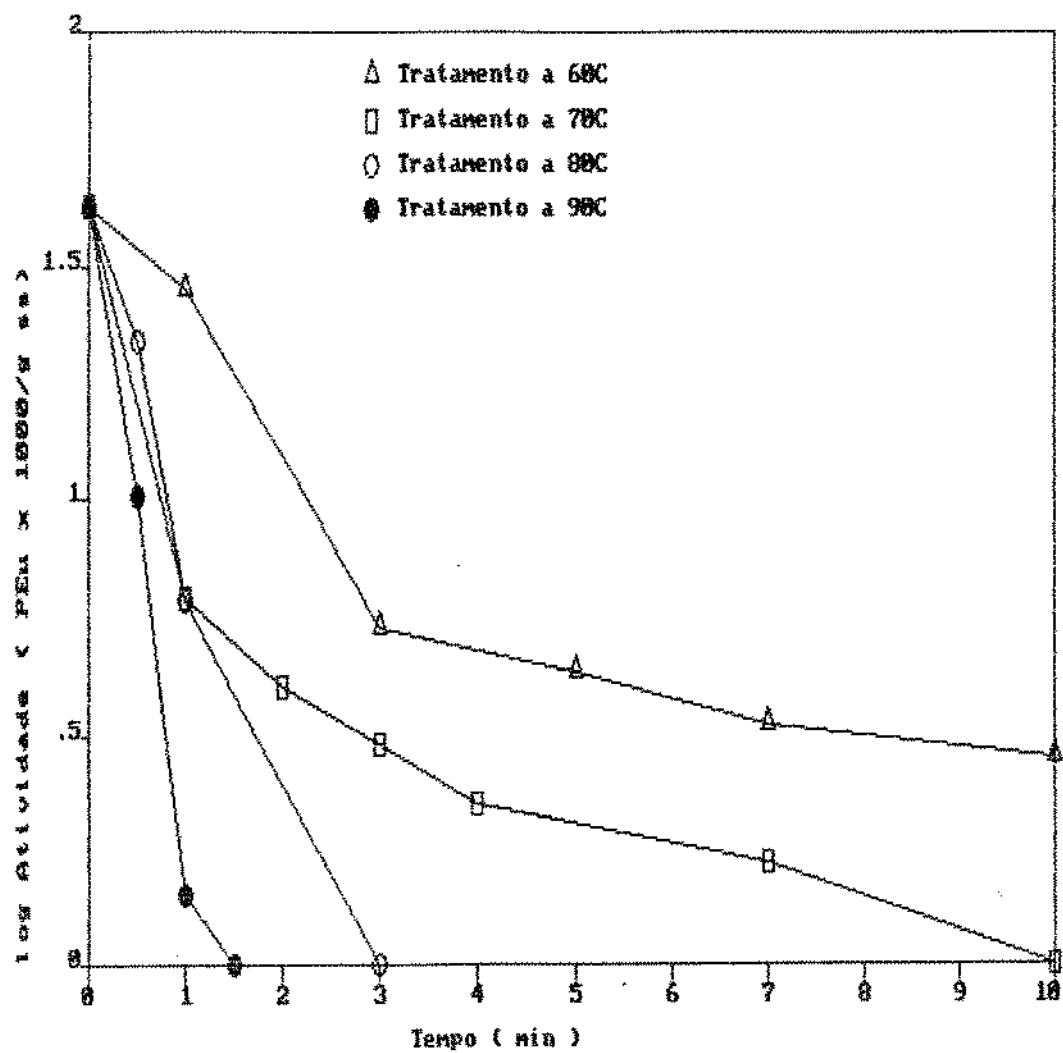


Figura 23 - Resistência Térmica de PE - laranja Péra Coroa

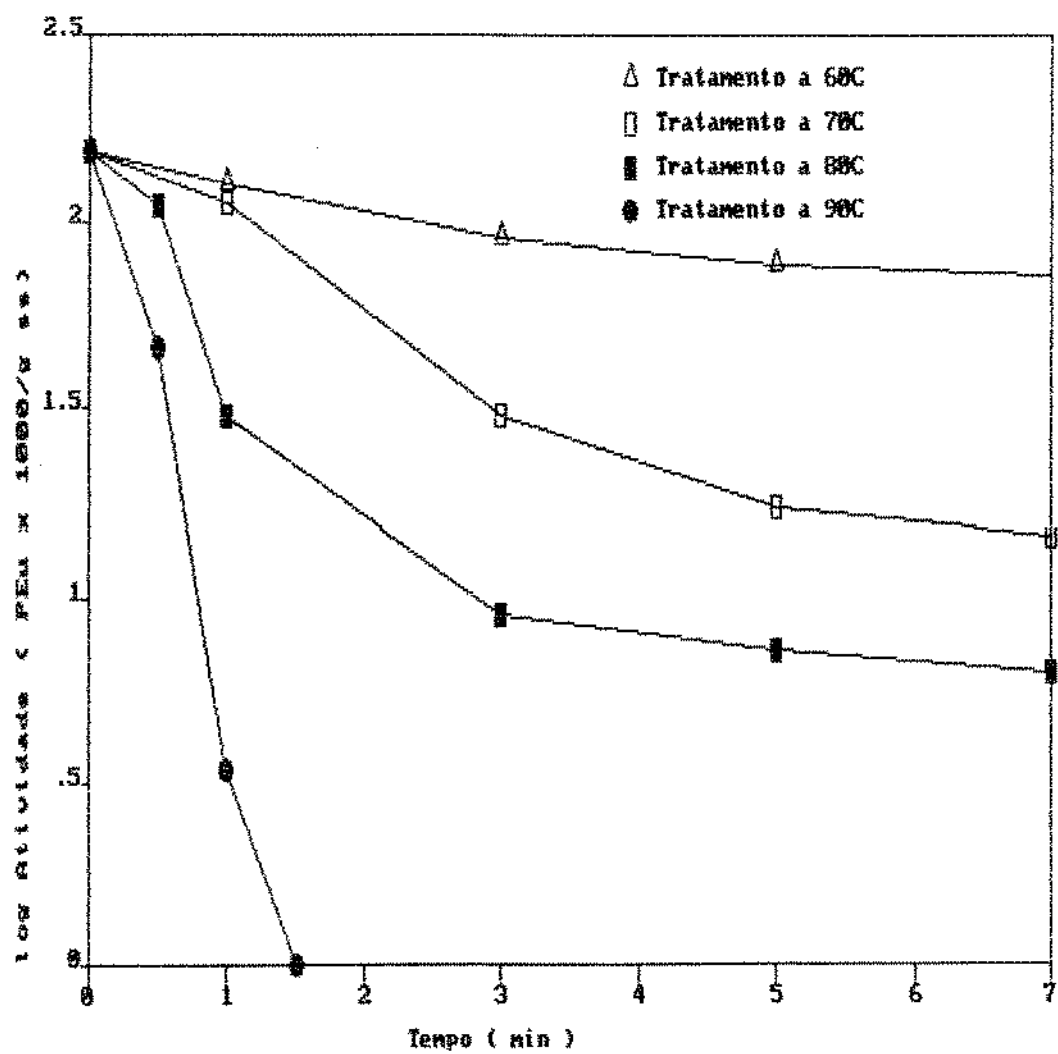


Figura 24 - Resistência térmica - laranja Natal

A existência de retas com diferentes inclinações para cada temperatura de tratamento nos gráficos do log da atividade em função do tempo, indicam também a presença de frações enzimáticas.

A grosso modo são caracterizadas duas frações, uma mais termossensível, inativada nos momentos iniciais, e outra mais termorresistente que leva mais tempo para ser inativada. Isso pode ser facilmente constatado observando-se as curvas de temperatura de tratamento mais baixas (60°C e 70°C), suficientes para inativar a fração termossensível que responde pela maior parte da atividade, mas incapazes de inativar a fração termorresistente, na maioria dos casos após dez minutos de tratamento.

A 90°C, que é a temperatura industrialmente utilizada, as laranjas Pêra Coroa e Natal foram mais rapidamente inativadas, não apresentando atividade residual após 1,5 minutos. A variedade Pêra Rio foi completamente inativada após dois minutos, sendo a variedade Valência a mais resistente ao tratamento térmico, apresentando atividade residual mesmo após dois minutos de tratamento.

Em todas as variedades, com exceção da laranja Pêra Coroa, o suco necessitou de uma temperatura de 90°C para a total inativação da PE em um tempo curto, de até dois minutos. As temperaturas mais baixas de tratamento resultaram em atividade enzimática residual, mesmo após sete a dez minutos. Na variedade Pêra Coroa um tratamento térmico a 80° foi suficiente para que com quatro minutos ocorresse a total inativação.

4.5 - ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE PE EM FUNÇÃO DO pH

Para determinação da atividade da enzima em diferentes valores de pH do meio, foram preparadas amostras de suco das quatro variedades de laranja em teste, procedendo com elas da

mesma forma que na determinação de atividade a pH 7,0 (padrão), porém ajustando os valores de pH aos desejados, que variaram de 3,5 a 8,0, com NaOH e ácido cítrico.

Abaixo do valor 3,5 não houve atividade enzimática detectável pelo método utilizado e acima de pH 8,0 não é possível obter resultados confiáveis devido à desesterificação da pectina pelo álcali. A temperatura utilizada durante os testes foi a padrão, ou seja, 30°C.

Os resultados e análises estatísticas estão nas tabelas A31 a A34 do apêndice A. A tabela 26 a seguir apresenta os valores de porcentagem de atividade de cada variedade, sempre em relação à máxima encontrada.

Tabela 26 - Porcentagem da atividade enzimática de PE em função do pH do meio

pH	ATIVIDADE RELATIVA DE PE (%)			
	Lar. Pêra Rio	Lar. Valência	Lar. Pêra Coroa	Lar. Natal
3,5	0,00	1,45	0,00	0,00
4,0	1,02	2,00	6,10	6,10
5,0	6,28	3,90	24,36	9,88
6,0	47,51	31,11	52,85	49,25
7,0	81,24	54,25	91,58	100,00
7,5	99,50	88,20	100,00	73,72
8,0	100,00	100,00	100,00	76,77

Os valores expressos na tabela 26 estão graficados na figura 25.

As variedades estudadas apresentaram enzimas com um ótimo de atividade a valores de pH entre 7,5 e 8,0, com exceção da variedade Natal cuja enzima PE tem atividade máxima a pH 7,0.

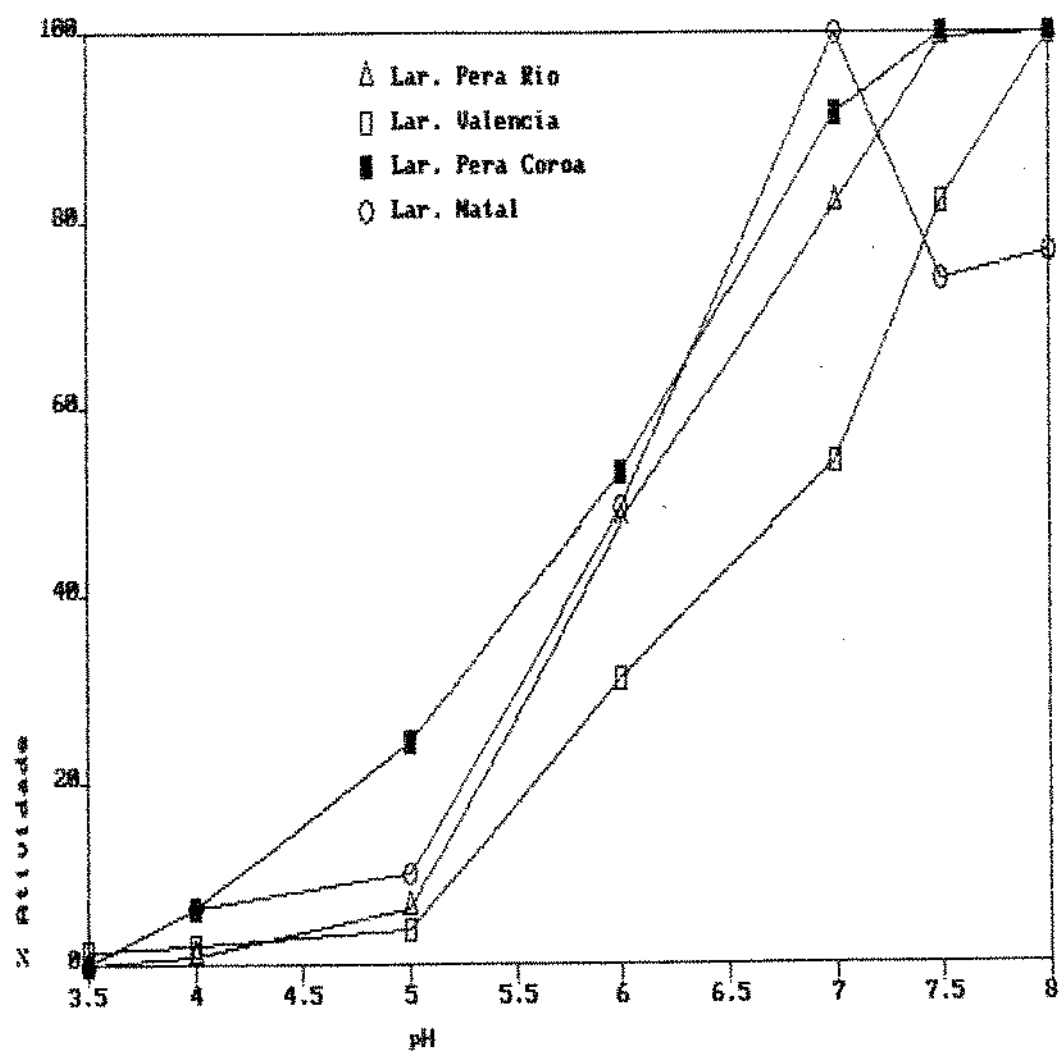


Figura 25- Atividade de PE versus pH

Entre pHs 3,5 e 4,0 que são valores de pH natural do suco, a atividade encontrada foi muito baixa, sendo que apenas a variedade Valência apresentou atividade mensurável a pH 3,5, o que não significa necessariamente que as atividades das outras variedades sejam zero, apenas não detectadas.

Aceitando-se que a atividade da PE seja a responsável pela desestabilização do suco, espera-se que a valores de atividade tão baixos tal fenômeno não ocorra momentaneamente, mesmo a 30°C. Também pode-se esperar que o suco da variedade Valência, por apresentar atividade a um valor de pH mais baixo, desestabilize mais rapidamente que as outras, fato a ser verificado pelo teste de estabilidade.

4.6 - ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE SUCO CONCENTRADO INDUSTRIAL

Dez amostras de suco de laranja concentrado a cerca de 65°Brix da companhia Citrosuco Paulista S/A foram analisadas quanto a atividade residual de PE. Cinco delas, da safra de 1990, foram produzidas entre os meses de agosto e dezembro. As cinco restantes consistiam de diferentes bateladas de produção do dia 17 de agosto de 1991. São elas:

- | | | | |
|------------|--|-------------|--|
| 1) #5708 { | Pêra CST Eckes
Brix = 63,7°
10/08/90 | 2) #5978 { | Pêra CST Eckes
Brix = 64,1°
18/09/90 |
| 3) #3482 { | Pêra STD USA
Brix = 64,2°
25/10/90 | 4) #3759 { | Pêra STD USA
Brix = 64,2°
03/11/90 |
| 5) #4420 { | Pêra Low Oil
Brix = 64,9°
20/12/90 | 6) #2072 { | Pêra Low Oil Eckes
Brix = 65,4°
17/08/91 |
| 7) #2073 { | Pêra STD USA
Brix = 64,7°
17/08/91 | 8) #2074 { | Pêra STD USA
Brix = 65,3°
17/08/91 |
| 9) #2076 { | Pêra Low Oil Eckes
Brix = 65,1°
17/08/91 | 10) #5896 { | Pêra STD USA
Brix = 64,3°
17/08/91 |

Primeiramente foram feitas análises de atividade residual reconstituindo-se o suco a 12°Brix e titulando-o. Como em nenhuma amostra foi detectada atividade, procedeu-se o "Stevens Cloud Test" descrito em 3.2.2.4 que detecta qualitativamente baixas atividades residuais de PE. Também neste teste foram obtidos resultados negativos em todas as amostras.

4.7 - ANÁLISE DE CÁLCIO E MAGNÉSIO

O mecanismo proposto para a desestabilização de suco de laranja, envolve a ligação química das cadeias de pectina desesterificadas pela ação da PE, com cátions bivalentes. A literatura consultada na revisão bibliográfica indica os íons cálcio como aqueles responsáveis por este fenômeno. Os íons magnésio, embora também presentes no suco, não são citados.

Este teste foi feito para verificar a presença de índices anormais de cálcio nas diversas amostras de suco de laranja estudadas, que poderiam conferir ao produto características de estabilidade da turbidez distintas das de sucos de outras regiões geográficas.

Devido a dificuldades técnicas para realização das análises na UNICAMP, amostras de suco foram enviadas para o CTAA (Centro Nacional de pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos) da EMBRAPA no Rio de Janeiro. Assim, foi possível testar-se apenas um número limitado de amostras de suco congelado. Também, devido à época do ano, as amostras analisadas não foram do mesmo lote no qual foi feito o teste de estabilidade. Porém, apesar das condições não ideais, os resultados obtidos têm seu valor comparativo com os publicados por outros autores.

O aparelho utilizado possibilitou quantificar também os

índices de magnésio nas amostras.

Tabela 27 - Cálcio e magnésio em suco de laranja.

IDENTIFICAÇÃO	Cálcio (mg/100g)	Magnésio (mg/100g/)
Pêra Rio	8,2	9,1
Pêra Coroa	11,6	11,2
Natal	19,8	11,0
Valência	7,5	7,4
Pêra Coroa (sem albedo)	13,0	8,5
Conc. # 2074	8,7	9,1
Conc. # 3759	11,2	11,5

KEFFORD e CHANDLER (1970), citam entre outros constituintes inorgânicos do suco de laranja, teores de cálcio que variam entre 4,9 e 20,6 mg/100g e de magnésio entre 5,0 e 14,7 mg/100g.

TING e colaboradores (1974), citado por NAGY (1977), indica teores de cálcio em suco de laranja que variam entre 3,4 mg/100ml e 20,9 mg/100ml. Já os teores de magnésio variaram entre 3,4 mg/100ml e 20,9 mg/100ml.

Não foram encontrados teores destes minerais que estivessem fora dos extremos citados pela literatura e que pudessem influir de forma diferenciada no mecanismo de desestabilização da turbidez do suco. Entretanto seu papel nesse processo foi verificado no teste de estabilidade dos vários sucos.

4.8 - ANÁLISE DA ESTABILIDADE DOS SUCOS

O último teste realizado foi o de estabilidade dos sucos descrito em 3.2.1 que qualifica a turbidez do suco pela transmitância da luz de um espectrofotômetro a 650 nm que passa por uma alíquota do produto após sua centrifugação.

As amostras analisadas foram de:

- 1) Sucos concentrados da CITROSUCO PULISTA S/A, PE inativos, da safra de 1991.
- 2) Sucos frescos, PE ativos, das variedades de laranja em estudo: Pêra Rio, Natal, Valência e Pêra Coroa. Este último foi dividido em quatro partes iguais.
- 3) Três partes restantes de suco fresco, PE ativo, da variedade Pêra Coroa às quais foram acrescentadas respectivamente 10 mg/100g, 20 mg/100g, 30 mg/100g e 40 mg/100g de Ca^{2+} (em relação ao íon bivalente numa solução de CaCl_2).
- 4) Suco fresco de laranjas Pêra Coroa liofilizado e diluído a 85°Brix, PE ativo, uma vez que foi concentrado sem a utilização de altas temperaturas.

Todas as amostras foram mantidas em estufa a 30°C por um período de até 120 horas. Esta temperatura foi escolhida por acelerar a reação enzimática de interesse e fornecer resultados mais imediatos, uma vez que o objetivo é provocar a desestabilização do suco e não realizar um teste de estocagem.

4.8.1 - SUCO CONCENTRADO

Foram analisadas primeiramente as amostras de suco concentrado da CITROSUCO PAULISTA S/A, que foram incubadas a 85°Brix, sendo o suco reconstituído a 12°Brix para o teste. Os resultados estão na tabela 28.

Os resultados mostraram um suco altamente estável com grande turbidez, sem tendência a desestabilizar-se com o tempo. Isso já era esperado uma vez que a PE nestas amostras estava

completamente inativa.

Tabela 28 - Teste de estabilidade das amostras de suco concentrado

Amostra #	TRANSMITÂNCIA (%)		
	Tempo		
	0 h	24 h	48 h
2076	1,3	1,3	1,1
2072	1,6	1,5	1,8
5896	1,4	1,5	1,5
2074	1,4	1,1	1,2
2073	1,1	1,5	1,5

4.8.2 - SUCO RECEM EXTRAIDO

Os sucos apresentaram as seguintes características:

Laranja Pêra Coroa { Brix = 11,95°
pH = 4,02
Acidez = 0,61 g/100g
Rel. Brix/acid. = 19,6:1

ml (NaOH)	t (min.)
0,25	0,6053
0,50	1,1910
0,75	1,6300
1,00	2,1653
1,25	2,6550
C=0,9999 Z=2,0531	
A= 7,66x10 ³ PEu/gss.	

Laranja Valência { Brix = 9,41°
pH = 3,63
Acidez = 0,70 g/100g
Rel. Brix/acid. = 13,4:1

ml (NaOH)	t (min.)
0,25	0,4160
0,50	0,7078
0,75	1,2283
1,00	2,0181
1,50	2,9775
C=0,9998 Z=1,5818	
A=12,63x10 ³ PEu/gss.	

Laranja Pêra Rio { Brix = 12,17°
pH = 3,77
Acidez = 0,68 g/100g
Rel. Brix/acid. = 17,9:1

ml (NaOH)	t (min.)
0,50	0,5278
1,00	1,0047
1,50	1,4550
2,00	1,9300
2,50	2,4119
C=0,9999 Z=0,9387	
A=16,46x10 ³ PEu/gss.	

Laranja Natal

{ Brix = 9,05
 pH = 3,80
 Acidez = 0,66 g/100g
 Rel. Brix/acid. = 19,7:1

ml(NaOH)	t (min.)
0,75	1,0091
1,00	1,3075
1,25	1,6204
1,50	1,9172
1,75	2,2389
C=0,9999 Z=1,2325	
A=16,85x10 ³ PEu/gss.	

Os resultados do teste de transmitância estão na tabela 29 e graficados na figura 28.

Tabela 29 - Desestabilização da turbidez em suco de laranja em função do tempo.

TRANSMITÂNCIA (%) *				
Tempo (h)	Pêra Rio	Pêra Coroa	Natal	Valência
0	7,03	4,93	10,43	7,42
24	11,98	6,97	28,08	25,36
48	24,82	19,35	42,87	43,45
72	33,60	26,90	41,74	55,60
120	49,25	31,40	43,84	79,04

* 0 - 24 % nenhuma separação
 25 - 35 % pouca separação
 36 - 60 % separação definida
 61 - 100 % separação extrema

Os resultados na figura 28 mostram que a desestabilização da turbidez dos sucos apresenta características distintas a cada uma das variedades estudadas. Após 48 horas de teste os suco de laranja Pêra Rio e Coroa ainda apresentavam valores de transmitância na faixa de grande turbidez ao passo que as variedades Natal e Valência já apresentavam separação definida. Após 120 horas o suco de laranja Valência apresentava separação extrema, não mostrando mais nenhuma turbidez; o suco de laranja Natal manteve-se nos patamares de separação definida, sendo alcançado pelo suco de laranja Pêra Rio e, finalmente, o suco de laranja Pêra Coroa apresentou apenas pouca separação.

Os resultados das variedades Pêra Rio, Pêra Coroa e

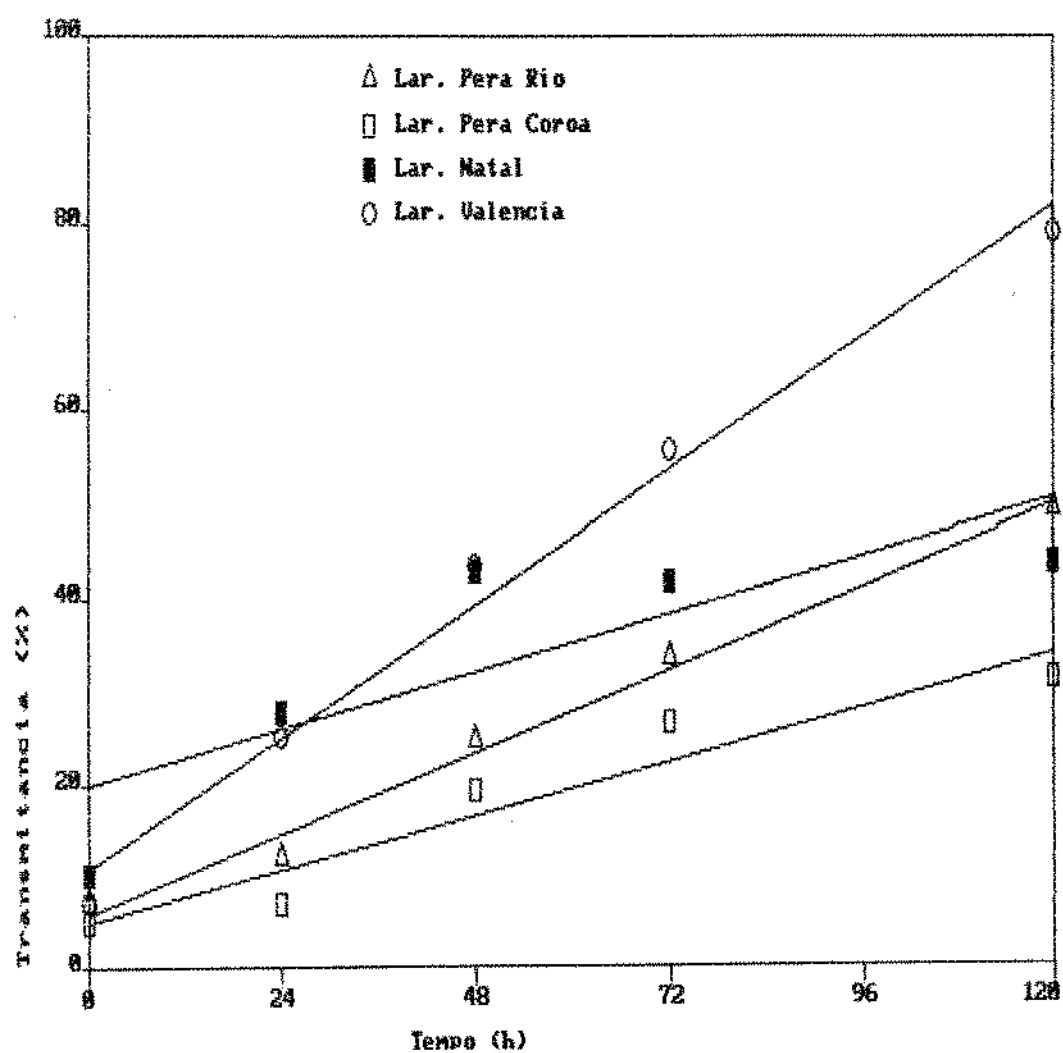


Figura 26 - Desestabilização da turbidez em suco de laranja em função do tempo.

Valência puderam ser correlacionados linearmente de acordo com as seguintes equações:

$$\text{Pêra Rio:} \quad \begin{cases} \text{Perda de turb. (\%)} = 0,3661 \times t(\text{horas}) + 5,947 \\ \text{correlação} = 0,9948 \end{cases}$$

$$\text{Pêra Coroa:} \quad \begin{cases} \text{Perda de turb. (\%)} = 0,2431 \times t(\text{horas}) + 5,0727 \\ \text{correlação} = 0,9549 \end{cases}$$

$$\text{Valência:} \quad \begin{cases} \text{Perda de turb. (\%)} = 0,5922 \times t(\text{horas}) + 10,9064 \\ \text{correlação} = 0,9931 \end{cases}$$

$$\text{Natal:} \quad \begin{cases} \text{Perda de turb. (\%)} = 0,2662 \times t(\text{horas}) + 15,7330 \\ \text{correlação} = 0,9021 \end{cases}$$

Devido ao menor raio de correlação dos pontos, especialmente para as variedades Natal e Coroa, foi aplicado o teste "t" de student para verificar o nível de significância da correlação. Para as variedades Pêra Rio e Valência há correlação a nível de 0,1 % de significância, para a variedade Coroa há correlação a nível de 2 % de significância e para a variedade Natal há correlação a nível de 5 % de significância. Assim, mesmo no caso da variedade Natal pode-se aceitar a hipótese de correlação linear entre os dados a um bom nível de significância.

As inclinações das retas resultantes indicam uma maior ou menor tendência à rápida desestabilização do suco. Porém a tentativa de se encontrar um "fator de desestabilização" usando as inclinações das retas e a atividade de PE a 30°C e pH 7,0 não foi bem sucedida pois a divisão dos valores de inclinação pelas respectivas atividades de PE não resulta num valor constante a todas as variedades.

Todos estes resultados reforçam a hipótese de que não se

pode basear as expectativas da desestabilização da turbidez de um suco de laranja unicamente pela sua atividade de PE, pois o complexo mecanismo depende também de outros fatores.

4.8.3 - SUCO COM ADIÇÃO DE CÁLCIO

Os resultados do teste de transmitância estão na tabela 30 e graficados na figura 27.

Tabela 30 - Desestabilização da turbidez em suco de laranja Pêra Coroa com o tempo em função da adição de cálcio.

TRANSMITÂNCIA (%)					
Tempo (h)	Controle	am 1 ^a	am 2 ^b	am 3 ^c	am 4 ^d
0	4,93	4,93	4,93	4,93	4,93
24	6,97	11,29	14,63	17,54	17,27
48	19,35	20,54	31,48	22,47	16,72
72	26,90	23,34	33,87	29,45	27,58
120	31,40	49,51	43,03	35,33	36,18

a - Amostra 1 com adição de 10 mg de Ca^{2+} por 100 g de suco

b - Amostra 2 com adição de 20 mg de Ca^{2+} por 100 g de suco

c - Amostra 3 com adição de 30 mg de Ca^{2+} por 100 g de suco

d - Amostra 4 com adição de 40 mg de Ca^{2+} por 100 g de suco

Estes dados também puderam ser correlacionados linearmente de acordo com as equações:

$$\text{Controle: } \begin{cases} \text{Perda de turb. (\%)} = 0,2431 \times t(\text{horas}) + 5,0727 \\ \text{correlação} = 0,9549 \end{cases}$$

$$1) + 10 \text{ mg/100g } \begin{cases} \text{Perda de turb. (\%)} = 0,3626 \times t(\text{horas}) + 2,7764 \\ \text{correlação} = 0,9801 \end{cases}$$

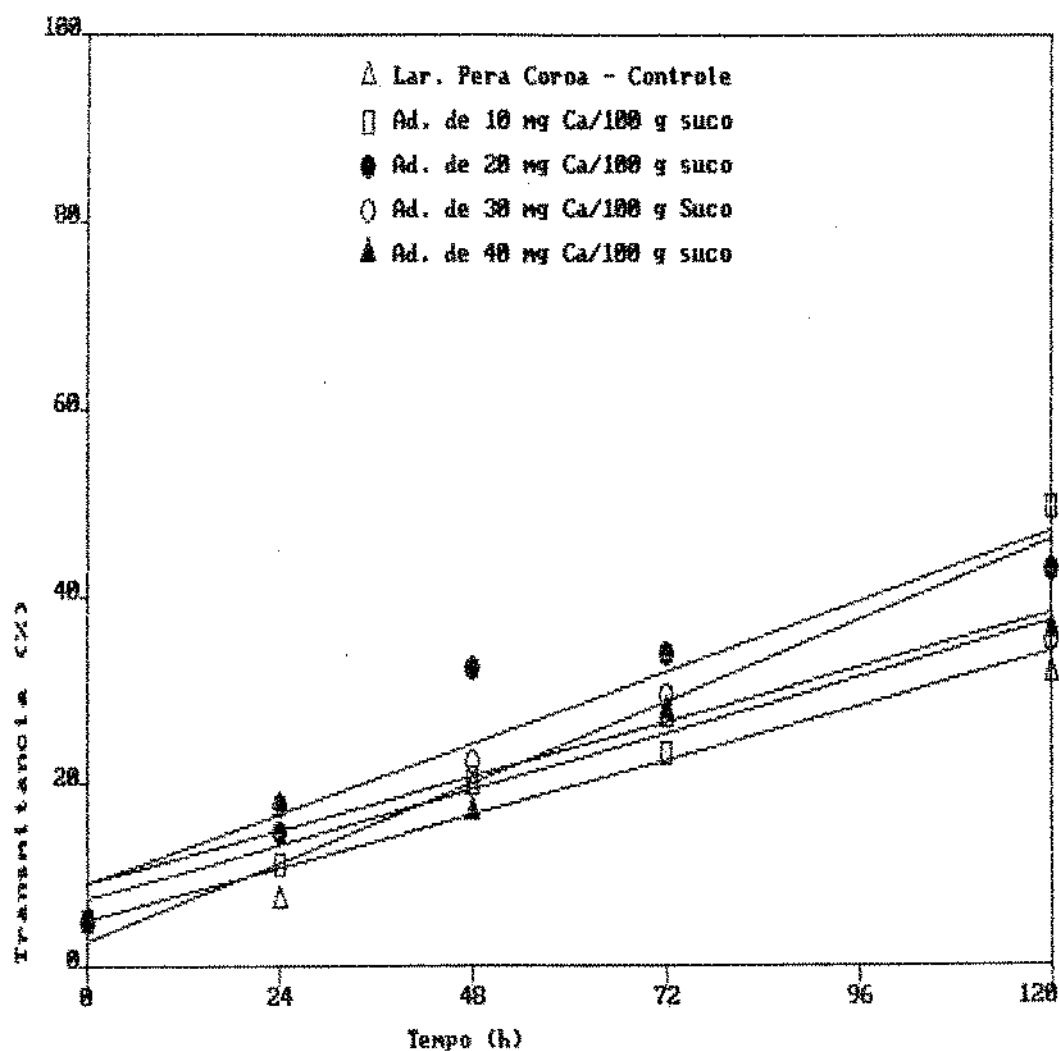


Figura 27 - Desestabilização da turbidez do suco de laranja Pêra Coroa com o tempo em função da adição de cálcio.

$$2) + 20 \text{ mg/100g} \quad \begin{cases} \text{Perda de turb.(\%) = } 0,3178 \times t(\text{horas}) + 8,8082 \\ \text{correlação} = 0,9498 \end{cases}$$

$$3) + 30 \text{ mg/100g} \quad \begin{cases} \text{Perda de turb.(\%) = } 0,2424 \times t(\text{horas}) + 9,1459 \\ \text{correlação} = 0,9589 \end{cases}$$

$$4) + 40 \text{ mg/100g} \quad \begin{cases} \text{Perda de turb.(\%) = } 0,2490 \times t(\text{horas}) + 7,3874 \\ \text{correlação} = 0,9699 \end{cases}$$

O teste de student indica que há correlação entre os dados a nível de 1,0 % para as amostras 1, 3 e 4, e a nível de 2,0 % para as amostras controle e 2.

Comparando-se as inclinações das retas resultantes, verifica-se que a adição de 10 mg de Ca^{2+} por 100g de suco foi a mais eficiente na contribuição ao processo de clarificação, sendo que nos níveis superiores a esse valor o comportamento tende a retornar ao definido pelo controle. Porém mesmo a adição de 10 mg/100 g foi insuficiente para causar uma mudança drástica nesse comportamento.

4.8.4 - SUCO LIOFILIZADO

Devido à indisponibilidade do equipamento de liofilização não foi possível obter suco liofilizado das quatro variedades de laranja em estudo. Assim, optou-se pela variedade Pera Coroa que todos os testes anteriores indicaram como sendo a melhor, no que diz respeito à estabilidade. Uma parte foi diluída a 65°Brix e outra a 10°Brix para a determinação de sua atividade de PE:

O suco foi incubado e analisado da mesma forma que o concentrado industrial. Os resultados estão na tabela 31.

Laranja Pêra Coroa { Brix = 10,50°
 pH = 9,95
 Liofilizado { Acidez = 0,67 g/100g
 Rel. Brix/acid. = 15,7:1

ml(NaOH)	t (min.)
1,00	1,1022
2,00	2,2372
3,00	3,3100
4,00	4,4250
C=1,0000 Z=1,1210	
A=15,97x10 ³ PEu/gas.	

Tabela 31 - Perda de estabilidade de suco liofilizado de laranjas Pêra Coroa.

Tempo (h)	TRANSMITÂNCIA (%)
0	0,45
24	0,67
48	0,59
72	0,64
96	0,58
120	0,57

Constata-se que a enzima PE ativa no suco concentrado não foi capaz de causar a desestabilização da turbidez no momento de sua reconstituição, mantendo o produto características idênticas de grande turbidez, mesmo após 120 horas .

V - CONCLUSÕES

1. A pH 7,0 e temperaturas acima de 50°C foi necessário corrigir os valores brutos de atividade para hidrólise da pectina pelo álcali.

2. Na prova para determinação de atividade, aquecendo-se primeiramente a solução de pectina à temperatura de teste e levando-a a pH 7,0 antes da adição do suco contendo a enzima, foi possível minimizar o efeito da temperatura na inativação enzimática.

3. A atividade de PE no suco foi maior nas frutas verdes, decrescendo com sua maturação. Porém a valores de relação Brix/acidez onde normalmente é feita a extração do suco não foram encontradas grandes variações. Também foi encontrado que incorporando-se mais elementos ao suco, tanto da parte externa como sementes trituradas, ocorre um aumento na atividade enzimática de até 1,3 vezes o obtido com uma extração normal.

4. As quatro variedades de laranja utilizadas neste estudo mostraram atividades de PE diferentes, com a variedade Valência mais alta, seguida por Natal, Pêra Rio e Pêra Coroa.

5. As curvas de atividade versus temperatura para todas as variedades mostraram a mesma forma, com um máximo entre 60° e 65°C, decrescendo rapidamente a temperaturas superiores a essas. As curvas também indicaram, em todas as variedades, patamares a 30°C e entre 40° e 50°C nas variedades Pêra Coroa e Natal, sugerindo a presença de diferentes frações enzimáticas.

6. Os valores calculados de energia de ativação pelas quatro variedades foram similares aos encontrados na literatura

consultada.

7. Os resultados dos tratamentos dos sucos de laranja das quatro variedades a 60°, 70°, 80° e 90°C mostraram a existência de duas frações, uma mais termossensível e outra mais termorresistente. O tratamento térmico mais eficiente para inativação da PE foi 90°C, inativando completamente a enzima após 2,0 minutos na variedade Pêra Rio, 1,5 minuto na variedade Natal e 1,0 minuto na variedade Pêra Coroa. Na variedade Valência ainda existiu atividade residual após 2,0 minutos.

8. As variedades estudadas apresentaram enzimas com um ótimo de atividade a valores de pH entre 7,0 e 8,0, com exceção da variedade Natal com atividade máxima a pH 7,0. A valores de pH natural do suco a atividade enzimática variou entre 0 e 6,1% da máxima encontrada.

9. Os testes de estabilidade mostraram que há uma relação linear da perda de turbidez do suco em relação ao tempo e que o suco de laranjas Valência foi o mais instável deles apresentando uma separação extrema ao fim do teste. Os sucos das variedades Pêra Coroa e Natal mostraram separação definida, com sua qualidade comprometida. Entretanto o suco de laranjas Pêra Coroa ainda apresentou pouca separação de sua turbidez, provando ser o de melhor qualidade com relação ao critério em estudo. Também no teste com suco liofilizado, PE ativo, a enzima não foi capaz de atuar desestabilizando sua turbidez enquanto concentrado a 65°Brix, indicando a complexidade dos processos que causam a desestabilização do suco de laranja.

10. A adição de Ca^{2+} aos sucos de laranja recém extraídos aumentou a desestabilização da turbidez.

PESQUISA COMPLEMENTAR

Os resultados de atividade enzimática em função da temperatura e de resistência térmica fornecem uma indicação clara de que o comportamento da enzima segue padrões diferenciados para cada variedade. Entretanto as curvas obtidas não podem ser interpretadas pelos seus valores absolutos pois sempre existem margens a variações inerentes à própria fruta, não englobadas neste trabalho. A principal delas seria pesquisar laranjas de diferentes áreas produtoras em várias safras. Porém tal estudo pode ser direcionado para determinados objetivos que ficaram definidos a partir dos resultados encontrados. Prioridade deve ser dada na verificação da tendência aqui revelada, ou seja, a variedade Pera Coroa apresentando baixa atividade de PE e um suco altamente estável. As variedades Pera Rio e Natal com estabilidades intermediárias e a variedade Valência com a mais alta atividade e suco menos estável.

Como a inativação da PE é o parâmetro que determina a intensidade do tratamento térmico conferido ao suco no momento de sua pasteurização, recomenda-se que seja verificada a possibilidade de serem empregadas temperaturas mais amenas de pasteurização o que, além de resultarem num menor consumo de energia, propiciariam um suco com um sabor mais próximo ao do recém-extraído. Também um teste de armazenamento pode ser sugerido para pesquisar o emprego de temperaturas de estocagem mais altas do que -20°C para a conservação do suco.

É pertinente lembrar que tal estudo deve ser muito criterioso também com os outros parâmetros de qualidade envolvidos, principalmente microbiológicos, e que qualquer alteração no processo produtivo deve considerar todos eles, porém além de uma economia energética, o resultado pode ser uma melhoria na qualidade e conseqüente valorização do produto.

Finalmente pode ser sugerido que, caso a variedade Pêra Coroa continue a apresentar um suco com boas características de estabilidade, ela possa ser utilizada como material genético no desenvolvimento de outras variedades, procurando usar como referência a característica de baixa atividade de PE.

VI - APÊNDICE A

6.1 - TESTE DE REPETIBILIDADE

Laranja Pêra Coroa

Brix = 8,5°

Acidez = 0,86 gac/100g

Rel. Brix/acidez = 10,1:1

Temperatura de teste = 30°C

Tabela A1 - Teste de repetibilidade

1) V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,8514
R ₂ - 0,75	1,0731
R ₃ - 1,00	1,7075
R ₄ - 1,25	2,1067
R ₅ - 1,50	2,5558
Indices	
C = 0,9927 Z ₁ = 1,7770	

2) V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,4528
R ₂ - 0,75	1,4203
R ₃ - 1,00	1,9153
R ₄ - 1,50	2,8353
R ₅ - 1,75	3,2703
Indices	
C = 0,9989 Z ₂ = 1,7392	

3) V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,4172
R ₂ - 0,50	0,9039
R ₃ - 0,75	1,3267
R ₄ - 1,00	1,7514
R ₅ - 1,25	2,2103
Indices	
C = 0,9997 Z ₃ = 1,7735	

4) V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,4556
R ₂ - 0,50	0,8206
R ₃ - 0,75	1,2347
R ₄ - 1,00	1,6742
R ₅ - 1,25	2,0575
Indices	
C = 0,9996 Z ₄ = 1,6230	

5) V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,3961
R ₂ - 0,50	0,8733
R ₃ - 0,75	1,2608
R ₄ - 1,00	1,7047
R ₅ - 1,25	2,1794
Indices	
C = 0,9995 Z ₅ = 1,7592	

6) V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,4017
R ₂ - 0,50	0,8918
R ₃ - 0,75	1,3031
R ₄ - 1,00	1,7253
R ₅ - 1,25	2,0858
Indices	
C = 0,9987 Z ₆ = 1,6811	

Tabela A1 - Continuação

7) V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,4258
R ₂ - 0,50	0,8856
R ₃ - 0,75	1,3383
R ₄ - 1,00	1,7767
R ₅ - 1,25	2,1818
Índices	
C = 0,9997 Z ₇ = 1,7612	

8) V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,3778
R ₂ - 0,50	0,7567
R ₃ - 0,75	1,2083
R ₄ - 1,00	1,5933
R ₅ - 1,25	2,9786
Índices	
C = 0,9996 Z ₈ = 1,6153	

9) V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,4272
R ₂ - 0,50	0,8589
R ₃ - 0,75	1,3478
R ₄ - 1,00	1,7828
R ₅ - 1,25	2,2117
Índices	
C = 0,9997 Z ₉ = 1,7972	

10) V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,4506
R ₂ - 0,50	0,8681
R ₃ - 0,75	1,3564
R ₄ - 1,00	1,7794
R ₅ - 1,25	2,2136
Índices	
C = 0,9997 Z ₁₀ = 1,7749	

$$\bar{Z} = 1,7302 \quad \delta(n-1) = 0,0653$$

6.2 - OBTENÇÃO DO BRANCO

Tabela A2 - Obtenção do Branco

T ₁ = 50°C	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	3,7003
R ₂ - 0,30	4,8031
R ₃ - 0,35	6,0231
R ₄ - 0,45	10,1108
R ₅ - -	-
Índices *	
C = 0,9996 Z = 23,2280	

T ₂ = 55°C	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,9089
R ₂ - 0,50	2,3747
R ₃ - 0,75	3,8756
R ₄ - 1,00	6,1519
R ₅ - 1,25	8,8303
Índices	
C = 0,9936 Z = 6,8920	

* - Não incluído na regressão linear por não correlacionar-se com os demais pontos.

Tabela A2 - Continuação

T ₃ = 61 °C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,40	1,2589
R ₂ - 0,55	1,9222
R ₃ - 0,80	3,2397
R ₄ - 1,00	4,3014
R ₅ - 1,20	5,3950
Indices	
C = 0,9996 Z = 5,3077	

T ₄ = 65 °C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,35	1,0051
R ₂ - 0,50	1,8599
R ₃ - 1,00	4,1127
R ₄ - 1,25	4,9341
R ₅ - 1,50	5,9877
Indices	
C = 0,9983 Z = 4,3652	

T ₅ = 70 °C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,20	0,6089
R ₂ - 0,40	1,2539
R ₃ - 0,60	1,8794
R ₄ - 0,80	2,5678
R ₅ - 1,00	3,1856
Indices	
C = 0,9999 Z = 3,2127	

T ₆ = 75 °C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,20	0,4908
R ₂ - 0,40	0,8611
R ₃ - 0,60	1,2775
R ₄ - 0,80	1,6697
R ₅ - 1,00	3,1856
Indices	
C = 0,9986 Z = 2,0319	

T ₇ = 78 °C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	1,1372
R ₂ - 0,75	1,6100
R ₃ - 1,00	2,0406
R ₄ - 1,50	2,8958
R ₅ - 1,75	3,3300
Indices	
C = 0,9998 Z = 1,7566	

T ₈ = 79 °C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,25	0,6653
R ₂ - 0,75	1,3758
R ₃ - 1,00	1,9250
R ₄ - 1,25	2,3442
R ₅ - 1,50	2,8725
Indices	
C = 0,9976 Z = 1,7478	

6.3 - DADOS DE ATIVIDADE DE PE VERSUS TEMPERATURA

6.3.1 - LARANJA PÊRA RIO

Características {

- Brix = 11,1°
- Acidez = 0,48g/100g
- Brix corrigido = 11,12°
- Relação Brix/acidez = 23,2:1

Tabela A3 - Laranja Pêra Rio: Atividade x Temperatura

T ₁ = 0°C	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	1,2294
R ₂ - 1,25	2,7486
R ₃ - 1,75	3,9378
R ₄ - 2,25	4,9908
R ₅ - 2,75	6,1608
Índices	
C = 0,9997 Z = 2,1967	
A = 7,70 10 ³ PEu/gss	

T ₂ = 4°C	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	1,1233
R ₂ - 1,00	2,2081
R ₃ - 1,50	3,3356
R ₄ - 2,00	4,5003
R ₅ - 2,50	5,6706
Índices	
C = 0,9999 Z = 2,2774	
A = 7,42 10 ³ PEu/gss	

T ₃ = 10°C	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,50	2,2958
R ₂ - 2,25	3,4703
R ₃ - 3,00	4,6144
R ₄ - 3,50	5,3633
R ₅ - 4,00	6,1511
Índices	
C = 1,0000 Z = 1,5369	
A = 11,00 10 ³ PEu/gss	

T ₄ = 15°C	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,5706
R ₂ - 1,00	1,1583
R ₃ - 1,50	1,7047
R ₄ - 2,00	2,2522
R ₅ - 2,50	2,7778
Índices	
C = 0,9998 Z = 1,0092	
A = 15,38 10 ³ PEu/gss	

Tabela A3 - Continuação

T ₅ = 20°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	0,3542
R ₂ - 1,00	0,8208
R ₃ - 1,50	1,2275
R ₄ - 2,50	2,1375
R ₅ - 3,00	2,5583
Indices	
C = 0,9999 Z = 0,8816	
A = 19,18 10 ³ PEu/gss	

T ₆ = 25°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	0,3372
R ₂ - 1,00	0,8917
R ₃ - 1,50	1,0989
R ₄ - 2,00	1,4847
R ₅ - 2,50	1,8681
Indices	
C = 0,9998 Z = 0,7710	
A = 21,93 10 ³ PEu/gss	

T ₇ = 30°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	0,2583
R ₂ - 1,00	0,5197
R ₃ - 1,50	0,8331
R ₄ - 2,00	1,1819
R ₅ - 2,50	1,5433
Indices	
C = 0,9978 Z = 0,6751	
A = 25,04 10 ³ PEu/gss	

T ₈ = 35°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	0,2758
R ₂ - 1,00	0,5917
R ₃ - 1,50	0,9056
R ₄ - 2,00	1,2381
R ₅ - 2,50	1,5514
Indices	
C = 0,9999 Z = 0,6437	
A = 26,26 10 ³ PEu/gss	

T ₉ = 39°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,00	0,4567
R ₂ - 2,00	1,0064
R ₃ - 3,00	1,5242
R ₄ - 4,00	2,0847
R ₅ - 5,00	2,5769
Indices	
C = 0,9998 Z = 0,5319	
A = 31,79 10 ³ PEu/gss	

T ₁₀ = 45°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,00	0,4712
R ₂ - 2,00	0,9214
R ₃ - 3,00	1,3661
R ₄ - 4,00	1,8276
R ₅ - 5,00	2,2258
Indices	
C = 0,9998 Z = 0,4409	
A = 38,35 10 ³ PEu/gss	

Tabela A3 - Continuação

T ₁₁ = 52°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,00	0,3619
R ₂ - 2,00	0,7014
R ₃ - 3,00	1,0278
R ₄ - 4,00	1,3425
R ₅ - 5,00	1,6775
Indices	
C = 0,9999 Z = 0,3272	
A = 51,67 10 ³ PEu/gas	
AL = 49,36 10 ³ PEu/gas	

T ₁₂ = 56°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,00	0,2733
R ₂ - 4,50	1,0497
R ₃ - 6,00	1,3864
R ₄ - 7,50	1,6997
R ₅ - 8,50	1,9225
Indices	
C = 0,9999 Z = 0,2197	
A = 76,95 10 ³ PEu/gas	
AL = 74,33 10 ³ PEu/gas	

T ₁₃ = 62°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,00	0,2011
R ₂ - 2,00	0,4089
R ₃ - 3,00	0,6006
R ₄ - 4,00	0,8311
R ₅ - 5,00	1,0678
Indices	
C = 0,9991 Z = 0,2156	
A = 78,42 10 ³ PEu/gas	
AL = 75,13 10 ³ PEu/gas	

T ₁₄ = 64°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,00	0,2653
R ₂ - 2,00	0,4792
R ₃ - 3,00	0,7178
R ₄ - 4,00	0,9339
R ₅ - 5,00	1,1694
Indices	
C = 0,9999 Z = 0,2263	
A = 74,71 10 ³ PEu/gas	
AL = 71,12 10 ³ PEu/gas	

T ₁₅ = 68°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,00	0,2400
R ₂ - 2,00	0,4611
R ₃ - 3,00	0,6892
R ₄ - 4,00	0,9197
R ₅ - 5,00	1,1392
Indices	
C = 0,9999 Z = 0,2283	
A = 74,05 10 ³ PEu/gas	
AL = 69,64 10 ³ PEu/gas	

T ₁₆ = 76°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	0,4231
R ₂ - 1,00	0,9556
R ₃ - 1,50	1,6344
R ₄ - 1,75	2,1758
R ₅ - 2,00	2,4803
Indices	
C = 0,9991 Z = 1,5116	
A = 11,18 10 ³ PEu/gas	
AL = 3,09 10 ³ PEu/gas	

6.3.2 - LARANJA PÊRA COROA

Características {

- Brix = 9,1°
- Acidez = 0,63g/100g
- Brix corrigido = 9,24°
- Relação Brix/acidez = 14,7:1

Tabela A4 - Laranja Pêra Coroa: Atividade x Temperatura

T ₁ = 0°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	1,4138
R ₂ - 1,00	2,5291
R ₃ - 1,50	3,9706
R ₄ - 2,00	5,0389
R ₅ - 2,50	6,4258
Índices	
C = 0,9992 Z = 2,5139	
A = 8,10 10 ³ PEu/gss	

T ₂ = 5°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	1,1047
R ₂ - 1,00	2,3725
R ₃ - 1,50	3,5689
R ₄ - 2,00	4,7542
R ₅ - 2,50	6,1064
Índices	
C = 0,9998 Z = 2,4770	
A = 8,22 10 ³ PEu/gss	

T ₃ = 10°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,50	3,0681
R ₂ - 2,50	5,0226
R ₃ - 3,00	5,8039
R ₄ - 3,50	6,8558
R ₅ - 4,00	7,8767
Índices	
C = 0,9995 Z = 1,8880	
A = 10,78 10 ³ PEu/gss	

T ₄ = 11°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	0,9600
R ₂ - 1,00	1,8558
R ₃ - 1,50	2,7572
R ₄ - 2,00	3,6750
R ₅ - 2,50	4,4014
Índices	
C = 0,9992 Z = 1,7404	
A = 11,70 10 ³ PEu/gss	

Tabela A4 - Continuação

T ₅ = 15°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,00	1,4750
R ₂ - 2,00	2,9406
R ₃ - 3,00	4,3389
R ₄ - 4,50	6,2275
R ₅ - 5,50	7,7589
Indices	
C = 0,9996 Z = 1,3725	
A = 14,83 10 ³ PEu/gss	

T ₆ = 20°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	0,5419
R ₂ - 1,00	1,0864
R ₃ - 1,50	1,6558
R ₄ - 2,00	2,1733
R ₅ - 2,50	2,7136
Indices	
C = 0,9999 Z = 1,0861	
A = 18,75 10 ³ PEu/gss	

T ₇ = 30°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	0,5889
R ₂ - 1,00	1,1239
R ₃ - 1,50	1,6567
R ₄ - 2,00	2,2072
R ₅ - 2,50	2,7697
Indices	
C = 0,9999 Z = 1,0890	
A = 18,70 10 ³ PEu/gss	

T ₈ = 34°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	0,5261
R ₂ - 1,00	1,0575
R ₃ - 1,50	1,5358
R ₄ - 2,00	2,0444
R ₅ - 2,50	2,4855
Indices	
C = 0,9996 Z = 0,9811	
A = 20,75 10 ³ PEu/gss	

T ₉ = 39°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	0,4226
R ₂ - 1,00	0,8092
R ₃ - 1,50	1,2417
R ₄ - 2,00	1,6189
R ₅ - 2,50	2,0514
Indices	
C = 0,9998 Z = 0,8135	
A = 25,03 10 ³ PEu/gss	

T ₁₀ = 44°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	0,3355
R ₂ - 1,00	0,6267
R ₃ - 1,50	1,0200
R ₄ - 2,00	1,3253
R ₅ - 2,50	1,6833
Indices	
C = 0,9992 Z = 0,6788	
A = 29,99 10 ³ PEu/gss	

Tabela A4 - Continuação

$T_{11} = 52^{\circ}\text{C}$	
V_{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,75	0,5183
R ₂ - 1,50	0,9917
R ₃ - 2,00	1,2425
R ₄ - 2,50	1,5039
R ₅ - 3,00	1,7669
Indices	
C = 0,9988 Z = 0,5496	
A = 37,04 10^3 PEu/gas	
AL = 34,26 10^3 PEu/gas	

$T_{12} = 56^{\circ}\text{C}$	
V_{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	0,2189
R ₂ - 1,50	0,6558
R ₃ - 2,00	0,8653
R ₄ - 2,50	1,0767
R ₅ - 3,50	1,5003
Indices	
C = 1,0000 Z = 0,4274	
A = 47,63 10^3 PEu/gas	
AL = 44,47 10^3 PEu/gas	

$T_{13} = 60^{\circ}\text{C}$	
V_{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,00	0,3358
R ₂ - 2,25	0,7383
R ₃ - 3,00	0,9889
R ₄ - 4,00	1,2722
R ₅ - 5,00	1,5100
Indices	
C = 0,9978 Z = 0,2958	
A = 68,81 10^3 PEu/gas	
AL = 65,17 10^3 PEu/gas	

$T_{14} = 64^{\circ}\text{C}$	
V_{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,00	0,3064
R ₂ - 2,00	0,6083
R ₃ - 3,00	0,9108
R ₄ - 4,00	1,1847
R ₅ - 5,00	1,5064
Indices	
C = 0,9998 Z = 0,2976	
A = 68,40 10^3 PEu/gas	
AL = 64,07 10^3 PEu/gas	

$T_{15} = 69^{\circ}\text{C}$	
V_{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	0,2514
R ₂ - 1,00	0,5075
R ₃ - 2,00	1,0767
R ₄ - 2,50	1,3700
R ₅ - 3,00	1,6908
Indices	
C = 0,9990 Z = 0,5906	
A = 34,47 10^3 PEu/gas	
AL = 28,84 10^3 PEu/gas	

$T_{16} = 74^{\circ}\text{C}$	
V_{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	0,4872
R ₂ - 0,75	1,3414
R ₃ - 1,00	1,8733
R ₄ - 1,25	2,3206
R ₅ - 1,50	2,8092
Indices	
C = 0,9905 Z = 2,2493	
A = 9,05 10^3 PEu/gas	
AL = 0,99 10^3 PEu/gas	

6.3.3 - LARANJA NATAL

Características	- Brix = 11,2° - Acidez = 0,49g/100g - Brix corrigido = 11,30° - Relação Brix/acidez = 22,2:1
-----------------	--

Tabela A5 - Laranja Natal: Atividade x Temperatura

T ₁ = 2°C	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,5881
R ₂ - 1,50	1,7347
R ₃ - 2,00	2,3169
R ₄ - 2,50	2,9108
R ₅ - 3,00	3,5108
Índices	
C = 0,9999 Z = 1,1683	
A = 14,24 10 ⁹ PEu/gas	

T ₂ = 5°C	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,5872
R ₂ - 1,00	1,1189
R ₃ - 1,50	1,6942
R ₄ - 2,00	2,2514
R ₅ - 2,50	2,7853
Índices	
C = 0,9999 Z = 1,1057	
A = 15,05 10 ⁹ PEu/gas	

T ₃ = 10°C	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,3899
R ₂ - 1,00	0,7742
R ₃ - 1,50	1,1706
R ₄ - 2,00	1,5742
R ₅ - 2,50	1,9706
Índices	
C = 1,0000 Z = 0,7923	
A = 21,00 10 ⁹ PEu/gas	

T ₄ = 16°C	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,55	0,3339
R ₂ - 1,50	1,0164
R ₃ - 2,00	1,3733
R ₄ - 2,50	1,7278
R ₅ - 3,00	2,0372
Índices	
C = 0,9998 Z = 0,6987	
A = 23,81 10 ⁹ PEu/gas	

Tabela A5 - Continuação

T5 = 20°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R1 - 0,50	0,2950
R2 - 1,50	0,8572
R3 - 2,50	1,4100
R4 - 3,50	1,9617
R5 - 4,50	2,4858
Indices	
C = 0,9999 Z = 0,5486	
A = 30,33 10 ³ PEu/gss	

T6 = 25°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R1 - 0,50	0,2433
R2 - 1,50	0,7287
R3 - 2,50	1,1969
R4 - 3,50	1,6392
R5 - 4,50	2,0644
Indices	
C = 0,9996 Z = 0,4555	
A = 36,53 10 ³ PEu/gss	

T7 = 30°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R1 - 1,00	0,2539
R2 - 2,00	0,6129
R3 - 3,00	0,9247
R4 - 4,00	1,2344
R5 - 5,00	1,5584
Indices	
C = 0,9996 Z = 0,3227	
A = 51,56 10 ³ PEu/gss	

T8 = 34°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R1 - 2,00	0,5075
R2 - 4,00	1,1425
R3 - 5,50	1,6075
R4 - 7,00	2,0856
R5 - 8,25	2,4961
Indices	
C = 1,0000 Z = 0,3173	
A = 52,43 10 ³ PEu/gss	

T9 = 41°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R1 - 2,00	0,4881
R2 - 5,00	1,1287
R3 - 7,00	1,6103
R4 - 8,55	1,9400
R5 - 10,00	2,2428
Indices	
C = 0,9997 Z = 0,2212	
A = 75,21 10 ³ PEu/gss	

T10 = 45°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R1 - 3,00	0,6264
R2 - 6,00	1,2358
R3 - 9,00	1,8767
R4 - 12,00	2,4672
R5 - 15,00	3,1294
Indices	
C = 0,9997 Z = 0,2079	
A = 80,03 10 ³ PEu/gss	

Tabela A5 - Continuação

T ₁₁ = 50°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 2,00	0,3933
R ₂ - 4,00	0,7689
R ₃ - 6,00	1,1275
R ₄ - 8,00	1,4961
R ₅ - 10,00	1,8653
Indices	
C = 1,0000 Z = 0,1836	
A = 90,62 10 ³ PEu/gas	
AL = 88,47 10 ³ PEu/gas	

T ₁₂ = 54°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 2,00	0,3242
R ₂ - 4,00	0,6372
R ₃ - 6,00	0,9603
R ₄ - 8,00	1,2697
R ₅ - 10,00	1,5831
Indices	
C = 1,0000 Z = 0,1569	
A = 106,04 10 ³ PEu/gas	
AL = 103,62 10 ³ PEu/gas	

T ₁₃ = 58°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 2,00	0,2489
R ₂ - 4,00	0,4786
R ₃ - 6,00	0,7100
R ₄ - 8,00	0,9383
R ₅ - 10,00	1,1506
Indices	
C = 0,9999 Z = 0,1132	
A = 146,97 10 ³ PEu/gas	
AL = 144,23 10 ³ PEu/gas	

T ₁₄ = 60°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 2,00	0,3064
R ₂ - 6,50	0,6083
R ₃ - 9,00	0,9108
R ₄ - -	-
R ₅ - -	-
Indices	
C = 0,9998 Z = 0,1056	
A = 157,55 10 ³ PEu/gas	
AL = 154,57 10 ³ PEu/gas	

T ₁₅ = 65°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,50	0,1925
R ₂ - 4,00	0,5022
R ₃ - 7,00	0,8747
R ₄ - 9,50	1,1800
R ₅ - 12,00	1,5039
Indices	
C = 1,0000 Z = 0,1245	
A = 133,63 10 ³ PEu/gas	
AL = 129,93 10 ³ PEu/gas	

T ₁₆ = 73°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,50	0,3344
R ₂ - 3,00	0,7422
R ₃ - 4,50	1,2950
R ₄ - 5,50	1,7267
R ₅ - 6,00	1,9950
Indices	
C = 0,9924 Z = 0,3880	
A = 42,88 10 ³ PEu/gas	
AL = 36,82 10 ³ PEu/gas	

Tabela A5- Continuação

$T_{17} = 75^{\circ}\text{C}$	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,2706
R ₂ - 0,50	0,5250
R ₃ - 0,75	0,8089
R ₄ - 1,00	1,0250
R ₅ - 1,25	1,2283
Indices	
C = 0,9985 Z = 0,9515	
A = 17,49 10^3 PEu/gss	
AL = 10,28 10^3 PEu/gss	

6.3.4 - LARANJA VALÊNCIA

Características {

- Brix = 11,4°
- Acidez = 0,58g/100g
- Brix corrigido = 11,52°
- Relação Brix/acidez = 19,9:1

Tabela A6 - Laranja Valência: Atividade x Temperatura

$T_1 = 0^{\circ}\text{C}$	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	1,0442
R ₂ - 1,50	1,4778
R ₃ - 2,00	1,9181
R ₄ - 2,50	2,3989
R ₅ - 3,00	2,8653
Indices	
C = 0,9998 Z = 0,9123	
A = 17,89 10^3 PEu/gss	

$T_2 = 7^{\circ}\text{C}$	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,3433
R ₂ - 1,00	0,7287
R ₃ - 1,50	1,0933
R ₄ - 2,00	1,4339
R ₅ - 2,50	1,7406
Indices	
C = 0,9991 Z = 0,7004	
A = 23,31 10^3 PEu/gss	

Tabela A6 - Continuação

T ₃ = 12°C	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,7128
R ₂ - 2,00	2,0200
R ₃ - 3,00	2,6208
R ₄ - 4,00	3,2867
R ₅ - 5,00	3,8917
Indices	
C = 0,9998 Z = 0,6288	
A = 25,96 10 ³ PEu/gas	

T ₄ = 15°C	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,5433
R ₂ - 2,00	1,0881
R ₃ - 2,50	1,3722
R ₄ - 3,05	1,6592
R ₅ - 3,50	1,9353
Indices	
C = 0,9998 Z = 0,5536	
A = 29,49 10 ³ PEu/gas	

T ₅ = 20°C	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,3794
R ₂ - 2,00	0,7453
R ₃ - 3,00	1,1242
R ₄ - 4,00	1,4908
R ₅ - 5,00	2,8697
Indices	
C = 1,0000 Z = 0,3726	
A = 43,81 10 ³ PEu/gas	

T ₆ = 25°C	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,3689
R ₂ - 2,00	0,7178
R ₃ - 3,05	1,0681
R ₄ - 4,00	1,4083
R ₅ - 5,00	1,7364
Indices	
C = 0,9999 Z = 0,3425	
A = 47,66 10 ³ PEu/gas	

T ₇ = 30°C	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,3222
R ₂ - 2,00	0,6339
R ₃ - 3,00	0,9453
R ₄ - 4,00	1,2400
R ₅ - 5,00	1,5250
Indices	
C = 0,9998 Z = 0,3012	
A = 54,20 10 ³ PEu/gas	

T ₈ = 35°C	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,2681
R ₂ - 2,00	0,5258
R ₃ - 3,00	0,7925
R ₄ - 4,00	1,0408
R ₅ - 5,00	1,2786
Indices	
C = 0,9998 Z = 0,2535	
A = 64,40 10 ³ PEu/gas	

Tabela A6 - Continuação

T ₉ = 39°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,50	0,3600
R ₂ - 3,00	1,6906
R ₃ - 4,50	1,0006
R ₄ - 6,00	1,3233
R ₅ - 7,50	2,6433
Indices	
C = 1,0000 Z = 0,2133	
A = 76,54 10 ³ PEu/g _{ss}	

T ₁₀ = 44°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,50	0,2961
R ₂ - 3,00	0,5672
R ₃ - 4,50	0,8383
R ₄ - 6,00	1,1083
R ₅ - 7,50	1,3725
Indices	
C = 1,0000 Z = 0,1796	
A = 90,90 10 ³ PEu/g _{ss}	

T ₁₁ = 49°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 2,00	0,2847
R ₂ - 4,00	0,5803
R ₃ - 6,00	0,8733
R ₄ - 8,00	1,1681
R ₅ - 10,00	1,4733
Indices	
C = 1,0000 Z = 0,1483	
A = 110,08 10 ³ PEu/g _{ss}	
AL = 107,98 10 ³ PEu/g _{ss}	

T ₁₂ = 54°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 2,00	0,2311
R ₂ - 4,00	0,4494
R ₃ - 6,00	0,6706
R ₄ - 8,00	0,8908
R ₅ - 10,00	1,1214
Indices	
C = 1,0000 Z = 0,1111	
A = 146,94 10 ³ PEu/g _{ss}	
AL = 144,57 10 ³ PEu/g _{ss}	

T ₁₃ = 60°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 2,00	0,2153
R ₂ - 4,00	0,4181
R ₃ - 6,00	0,6356
R ₄ - 8,00	0,8392
R ₅ - 10,00	1,0592
Indices	
C = 0,9999 Z = 0,1054	
A = 154,88 10 ³ PEu/g _{ss}	
AL = 151,96 10 ³ PEu/g _{ss}	

T ₁₄ = 64°C	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 2,00	0,1758
R ₂ - 4,00	0,3460
R ₃ - 6,00	0,7397
R ₄ - 10,00	0,9231
R ₅ - -	-
Indices	
C = 0,9997 Z = 0,0944	
A = 172,94 10 ³ PEu/g _{ss}	
AL = 169,47 10 ³ PEu/g _{ss}	

Tabela A6- Continuação

$T_{15} = 69^{\circ}\text{C}$		$T_{16} = 75^{\circ}\text{C}$	
V_{NaOH} (ml)	t (min)	V_{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,50	0,1672	R ₁ - 0,50	0,4731
R ₂ - 4,00	0,4514	R ₂ - 1,00	0,9575
R ₃ - 6,00	0,6994	R ₃ - 1,50	1,2839
R ₄ - 8,00	0,9722	R ₄ - 2,00	1,6853
R ₅ - 10,00	1,2414	R ₅ - 2,50	2,0172
Índices		Índices	
$C = 0,9996 \quad Z = 0,1269$		$C = 0,9977 \quad Z = 0,7632$	
$A = 128,65 \cdot 10^3 \text{ PEu/gas}$		$A = 21,39 \cdot 10^3 \text{ PEu/gas}$	
$AL = 124,13 \cdot 10^3 \text{ PEu/gas}$		$AL = 14,32 \cdot 10^3 \text{ PEu/gas}$	

6.4 - DADOS DE RESISTÊNCIA TÉRMICA

6.4.1 - LARANJA VALÊNCIA

Tabela A7 - Resistência Térmica Laranja Valência

Tratamento a 60°C - Leitura a 30°C

Tempo de Retenção = 01 min		Tempo de Retenção = 03 min	
V_{NaOH} (ml)	t (min)	V_{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,00	0,2881	R ₁ - 1,00	0,5011
R ₂ - 2,00	0,6108	R ₂ - 2,00	0,9933
R ₃ - 3,00	0,9181	R ₃ - 3,00	1,4925
R ₄ - 4,00	1,2717	R ₄ - 4,00	1,9803
R ₅ - 5,00	1,5944	R ₅ - 5,00	2,4600
Índices		Índices	
$C = 0,9998 \quad Z = 0,3274$		$C = 1,0000 \quad Z = 0,4905$	
$A = 49,86 \cdot 10^3 \text{ PEu/gas}$		$A = 33,28 \cdot 10^3 \text{ PEu/gas}$	

Tabela A7 - Continuação

Tempo de Retenção = 05 min		
V _{NaOH} (ml)		t(min)
R ₁ -	0,50	0,4214
R ₂ -	1,00	0,8042
R ₃ -	1,50	1,1767
R ₄ -	2,00	1,5444
R ₅ -	2,50	1,9017
Índices		
C = 0,9999		Z = 0,7423
A = 22,06 10 ³		PEu/gas

Tempo de Retenção = 07 min		
V _{NaOH} (ml)		t(min)
R ₁ -	0,50	0,4811
R ₂ -	1,00	0,8514
R ₃ -	1,50	1,2750
R ₄ -	2,00	1,6619
R ₅ -	2,50	1,0847
Índices		
C = 0,9998		Z = 0,8035
A = 20,32 10 ³		PEu/gas

Tempo de Retenção = 10 min		
V _{NaOH} (ml)		t(min)
R ₁ -	0,25	0,3742
R ₂ -	0,50	0,7539
R ₃ -	0,75	1,1197
R ₄ -	1,00	1,4681
R ₅ -	1,25	1,8381
Índices		
C = 0,9999		Z = 1,4568
A = 11,21 10 ³		PEu/gas

Tabela A8 - Resistência Térmica Laranja Valência

Tratamento a 60°C - Leitura a 60°C

Tempo de Retenção = 01 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 2,00	0,1889
R ₂ - 4,00	0,3889
R ₃ - 6,00	0,5617
R ₄ - 8,00	0,7458
R ₅ - 10,00	0,9181
Índices	
C = 0,9997 Z = 0,0908	
A = 179,79 10 ³ PEu/gss	
AL = 176,87 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 03 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,50	0,2319
R ₂ - 3,00	0,4714
R ₃ - 4,50	0,7014
R ₄ - 6,00	0,9356
R ₅ - 7,50	1,1628
Índices	
C = 1,0000 Z = 0,4905	
A = 105,12 10 ³ PEu/gss	
AL = 102,19 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 05 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,50	0,4300
R ₂ - 2,50	0,6906
R ₃ - 3,50	0,9092
R ₄ - 4,50	1,1403
R ₅ - 5,50	1,3689
Índices	
C = 0,9996 Z = 0,2329	
A = 70,09 10 ³ PEu/gss	
AL = 67,17 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 07 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,3442
R ₂ - 2,00	0,6750
R ₃ - 3,00	1,0233
R ₄ - 4,00	1,3556
R ₅ - 5,00	1,6681
Índices	
C = 0,9998 Z = 0,3328	
A = 49,05 10 ³ PEu/gss	
AL = 46,13 10 ³ PEu/gss	

Tabela A8 - Continuação

Tempo de Retenção = 10 min	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 1,00	0,3539
R ₂ - 2,00	0,7389
R ₃ - 3,00	1,0731
R ₄ - 4,00	1,3925
R ₅ - 5,00	1,7144
Índices	
C = 0,9993 Z = 0,3375	
A = 48,37 10 ³ PEu/gss	
AL = 45,44 10 ³ PEu/gss	

Tabela A9 - Resistência Térmica Laranja Valência

Tratamento a 60°C - Leitura a 70°C

Tempo de Retenção = 01 min	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 2,00	0,3039
R ₂ - 4,00	0,6100
R ₃ - 6,00	0,9392
R ₄ - 8,00	1,2847
R ₅ - 10,00	1,6169
Índices	
C = 0,9998 Z = 0,1650	
A = 98,94 10 ³ PEu/gss	
AL = 94,14 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 03 min	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 2,00	0,3128
R ₂ - 4,00	0,6522
R ₃ - 6,00	1,0083
R ₄ - 8,00	1,3486
R ₅ - 10,00	1,6969
Índices	
C = 1,0000 Z = 0,1732	
A = 94,26 10 ³ PEu/gss	
AL = 89,45 10 ³ PEu/gss	

Tabela A9 - Continuação

Tempo de Retenção = 05 min		Tempo de Retenção = 07 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)	V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00		R ₁ - 1,00	0,3200
R ₂ - 1,50		R ₂ - 2,00	0,6506
R ₃ - 2,00		R ₃ - 3,00	1,0192
R ₄ - 2,50		R ₄ - 4,00	1,4056
R ₅ - 3,00		R ₅ - 5,00	1,8136
Indices		Indices	
C = 0,9996 Z = 0,7126		C = 0,9992 Z = 0,3742	
A = 52,80 10 ³ PEu/gas		A = 43,63 10 ³ PEu/gas	
AL = 48,00 10 ³ PEu/gas		AL = 38,82 10 ³ PEu/gas	

Tempo de Retenção = 10 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,3392
R ₂ - 2,00	0,7250
R ₃ - 3,00	1,1506
R ₄ - 4,00	1,5989
R ₅ - 4,50	1,8286
Indices	
C = 0,9995 Z = 0,4272	
A = 38,33 10 ³ PEu/gas	
AL = 33,41 10 ³ PEu/gas	

Tabela A10 - Resistência Térmica Laranja Valência

Tratamento a 70°C - Leitura a 30°C

Tempo de Retenção = 01 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,4978
R ₂ - 2,00	0,9733
R ₃ - 3,00	1,4681
R ₄ - 4,00	1,9294
R ₅ - 5,00	2,3883
Índices	
C = 0,9999 Z = 0,4737	
A = 34,46 10 ³ PEu/gas	

Tempo de Retenção = 03 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,8847
R ₂ - 0,50	1,8672
R ₃ - 0,75	2,7497
R ₄ - 1,00	3,5311
R ₅ - 1,25	4,2756
Índices	
C = 0,9983 Z = 3,3783	
A = 4,83 10 ³ PEu/gas	

Tempo de Retenção = 05 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,9092
R ₂ - 0,50	2,0042
R ₃ - 0,75	2,8533
R ₄ - 1,00	3,7392
R ₅ - 1,25	4,7506
Índices	
C = 0,9991 Z = 3,7671	
A = 4,33 10 ³ PEu/gas	

Tempo de Retenção = 07 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,5384
R ₂ - 0,50	1,4492
R ₃ - 0,75	2,3495
R ₄ - 1,00	3,2261
R ₅ - 1,25	4,1414
Índices	
C = 0,9950 Z = 4,5348	
A = 3,60 10 ³ PEu/gas	

Tabela A10 - Continuação

Tempo de Retenção = 10 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	1,5278
R ₂ - 0,40	2,3567
R ₃ - 0,50	2,9725
R ₄ - 0,60	3,3608
R ₅ - 0,70	3,9839
Índices	
C = 0,9983 Z = 5,3874	
A = 3,03 10 ³ PEu/g _{ss}	

Tabela A11 - Resistência Térmica Laranja Valência

Tratamento a 70°C - Leitura a 60°C

Tempo de Retenção = 01 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,1506
R ₂ - 2,00	0,2953
R ₃ - 3,00	0,4358
R ₄ - 4,00	0,5725
R ₅ - 5,00	0,7031
Índices	
C = 0,9998 Z = 0,1382	
A = 118,13 10 ³ PEu/g _{ss}	
AL = 115,20 10 ³ PEu/g _{ss}	

Tempo de Retenção = 03 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,9503
R ₂ - 1,50	1,3347
R ₃ - 3,00	2,4864
R ₄ - 3,50	2,9058
R ₅ - 4,00	3,2661
Índices	
C = 0,9999 Z = 0,7721	
A = 21,14 10 ³ PEu/g _{ss}	
AL = 18,22 10 ³ PEu/g _{ss}	

Tabela A11 - Continuação

Tempo de Retenção = 05 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,5547
R ₂ - 1,00	1,0372
R ₃ - 1,50	1,5433
R ₄ - 2,00	2,0128
R ₅ - 2,55	2,4933
Índices	
C = 0,9999	Z = 0,9706
A = 16,82 10 ³	PEu/gss
AL = 13,89 10 ³	PEu/gss

Tempo de Retenção = 07 min	
V_{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,25	0,2064
R ₂ - 0,50	0,4864
R ₃ - 0,75	0,8178
R ₄ - 1,00	1,1775
R ₅ - 1,25	1,5083
Índices	
C = 0,9995	Z = 1,3243
A = 12,33 10^3	PEu/gss
AL = 9,40 10^3	PEu/gss

Tempo de Retenção = 10 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,3864
R ₂ - 0,50	0,6619
R ₃ - 0,75	1,1558
R ₄ - 1,00	1,4592
R ₅ - 1,25	1,8267
Índices	
C = 0,9982	Z = 1,4732
A = 11,08 10 ³	PEu/gss
AL = 8,16 10 ³	PEu/gss

Tabela A12- Resistência Térmica Laranja Valência

Tratamento a 70°C - Leitura a 70°C

Tempo de Retenção = 01 min		
V NaOH (ml)		t(min)
R ₁ -	1,50	0,2697
R ₂ -	3,00	0,5417
R ₃ -	4,50	0,8514
R ₄ -	6,00	1,1408
R ₅ -	7,50	1,4442
Índices		
C =	0,9998	Z = 0,1965
A =	83,08 10 ³	PEu/gss
AL =	78,28 10 ³	PEu/gss

Tempo de Retenção = 03 min		
V _{NaOH} (ml)		t (min)
R ₁ -	0,50	0,3514
R ₂ -	1,00	0,7056
R ₃ -	1,50	1,0881
R ₄ -	2,00	1,4389
R ₅ -	2,50	1,8522
Índices		
C = 0,9996		Z = 0,7470
A = 21,85 10 ³		PEu/gss
AL = 17,05 10 ³		PEu/gss

Tempo de Retenção = 05 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,3067
R ₂ - 0,50	0,5722
R ₃ - 0,75	0,9022
R ₄ - 1,00	1,2169
R ₅ - 1,25	1,5292
Índices	
C = 0,9995	Z = 1,2136
A = 13,45 10 ³	PEu/gss
AL = 12,65 10 ³	PEu/gss

Tempo de Retenção = 07 min		
V _{NaOH} (Cml)		t (min)
R ₁ -	1,00	0,2867
R ₂ -	2,00	0,5900
R ₃ -	3,00	0,8575
R ₄ -	4,00	1,0786
R ₅ -	5,00	1,3192
Índices		
C = 0,9976		Z = 0,9800
A = 16,66 10 ³		PEu/gss
AL = 11,85 10 ³		PEu/gss

Tabela A12 - Continuação

Tempo de Retenção = 10 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,2944
R ₂ - 0,50	0,5514
R ₃ - 0,75	0,8292
R ₄ - 1,00	1,0714
R ₅ - 1,50	1,5364
Índices	
C = 0,9998 Z = 0,9840	
A = 16,59 10 ³ PEu/gss	
AL = 11,79 10 ³ PEu/gss	

Tabela A13 - Resistência Térmica Laranja Valência

Tratamento a 80°C - Leitura a 30°C

Tempo de Retenção = 01 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	1,0858
R ₂ - 0,75	1,5533
R ₃ - 1,00	2,0861
R ₄ - 1,50	3,0425
R ₅ - 1,75	3,4819
Índices	
C = 0,9998 Z = 1,9335	
A = 08,46 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 02 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,10	1,4717
R ₂ - 0,20	2,7058
R ₃ - 0,30	3,6978
R ₄ - 0,40	4,5406
R ₅ - 0,50	5,5364
Índices	
C = 0,9978 Z = 9,9642	
A = 01,64 10 ³ PEu/gss	

Tabela A13 - Continuação

Tempo de Retenção = 05 min		
V_{NaOH} (ml)		t(min)
R ₁ -	0,10	1,4936
R ₂ -	0,20	2,8986
R ₃ -	0,30	4,3197
R ₄ -	0,40	5,8339
R ₅ -	1,55	7,4319
Índices		
C = 0,9973		Z = 13,3853
A = 01,22 10 ³		PEu/gss

Tabela A14 - Resistência Térmica Laranja Valência

Tratamento a 80°C - Leitura a 60°C

Tempo de Retenção = 01 min		
V_{NaOH} (ml)		t(min)
R ₁ -	1,00	0,7733
R ₂ -	1,50	1,1250
R ₃ -	2,00	1,4408
R ₄ -	2,50	1,8408
R ₅ -	3,00	2,1908
Índices		
C = 0,9994		Z = 0,7102
A = 23,02 10 ³		PEu/gss
AL = 20,09 10 ³		PEu/gss

Tempo de Retenção = 02 min		
V_{NaOH} (ml)		t(min)
R ₁ -	0,50	0,9389
R ₂ -	0,75	1,4072
R ₃ -	1,00	1,8689
R ₄ -	1,25	2,0056
R ₅ -	1,50	2,4292
Índices		
C = 0,9972		Z = 1,4815
A = 11,03 10 ³		PEu/gss
AL = 08,10 10 ³		PEu/gss

Tabela A14 - Continuação

Tempo de Retenção = 03 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,5064
R ₂ - 0,55	1,2356
R ₃ - 0,75	1,7575
R ₄ - 1,00	2,2881
R ₅ - 1,25	2,8278
Índices	
C = 0,9972 Z = 2,1970	
A = 07,44 10 ³ PEu/gss	
AL = 04,51 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 05 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	1,0539
R ₂ - 0,50	1,7961
R ₃ - 0,75	2,5172
R ₄ - 1,00	3,1067
R ₅ - 1,25	3,8389
Índices	
C = 0,9996 Z = 2,7422	
A = 05,96 10 ³ PEu/gss	
AL = 03,03 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 07 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,6494
R ₂ - 0,50	1,2775
R ₃ - 0,75	1,8547
R ₄ - 1,00	2,4214
R ₅ - 1,25	2,9950
Índices	
C = 0,9998 Z = 2,3340	
A = 07,00 10 ³ PEu/gss	
AL = 04,07 10 ³ PEu/gss	

Tabela A15 - Resistência Térmica Laranja Valência

Tratamento a 80°C - Leitura a 70°C

Tempo de Retenção = 01 min		
V_{NaOH} (ml)		t (min)
R ₁ -	0,50	0,3786
R ₂ -	1,00	0,7908
R ₃ -	1,50	1,2064
R ₄ -	2,00	1,6575
R ₅ -	2,50	2,1275
Índices		
C = 0,9996		Z = 0,8729
A = 18,73 10 ³		PEu/gss
AL = 13,92 10 ³		PEu/gss

Tempo de Retenção = 02 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,6733
R ₂ - 0,50	1,2347
R ₃ - 0,75	1,6331
R ₄ - 1,00	2,0917
R ₅ - 1,25	2,4408
Índices	
C = 0,9969	Z = 1,7568
A = 09,31 10 ³	PEu/gss
AL = 04,49 10 ³	PEu/gss

Tempo de Retenção = 03 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,2925
R ₂ - 0,50	0,5714
R ₃ - 0,75	0,9450
R ₄ - 1,25	1,6897
R ₅ - 1,50	2,2136
Índices	
C = 0,9978	Z = 1,5489
A = 10,55 10 ³	PEu/gss
AL = 05,74 10 ³	PEu/gss

Tempo de Retenção = 05 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,5003
R ₂ - 0,50	0,8661
R ₃ - 0,75	1,7697
R ₄ - 1,00	2,2592
R ₅ - 1,25	2,7039
Índices	
C = 0,9935	Z = 2,1295
A = 07,68 10 ³	PEu/gas
AL = 02,87 10 ³	PEu/gas

Tabela A15 - Continuação

Tempo de Retenção = 07 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,20	0,6503
R ₂ - 0,40	1,2864
R ₃ - 0,60	1,5978
R ₄ - 1,00	2,4519
R ₅ - 1,25	2,8381
Índices	
C = 0,9966 Z = 7,8249	
A = 07,82 10 ⁹ PEu/gas	
AL = 03,01 10 ⁹ PEu/gas	

Tabela A16 - Resistência Térmica Laranja Valência

Tratamento a 90°C - Leitura a 30°C

Tempo de Retenção = 0,5min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	1,0596
R ₂ - 0,75	1,5900
R ₃ - 1,00	2,0725
R ₄ - 1,25	2,6400
R ₅ - 1,50	3,1281
Índices	
C = 0,9991 Z = 2,0689	
A = 07,90 10 ⁹ PEu/gas	

Tempo de Retenção = 01 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,20	5,4881
R ₂ - 0,25	6,9231
R ₃ - 0,30	8,1528
R ₄ - 0,35	9,0756
R ₅ - -	-
Índices	
C = 0,9954 Z = 23,9844	
A = 00,68 10 ⁹ PEu/gas	

Tabela A17 - Resistência Térmica Laranja Valência

Tratamento a 90°C - Leitura a 60°C

Tempo de Retenção = 0,5min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,5066
R ₂ - 1,50	0,7522
R ₃ - 2,00	1,0750
R ₄ - 2,50	1,3400
R ₅ - 3,00	1,5978
Índices	
C = 0,9996	Z = 0,5522
A = 29,60 10 ³	PEu/gss
AL = 26,67 10 ³	PEu/gss

Tempo de Retenção = 01 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	1,1372
R ₂ - 0,75	1,6172
R ₃ - 1,00	2,1078
R ₄ - 1,25	2,6589
R ₅ - 1,50	3,1669
Índices	
C = 0,9997	Z = 2,0404
A = 08,01 10 ³	PEu/gss
AL = 05,08 10 ³	PEu/gss

Tempo de Retenção = 02 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	1,5258
R ₂ - 0,55	2,6506
R ₃ - 0,75	3,8222
R ₄ - 1,00	4,8892
R ₅ - 1,25	6,0811
Índices	
C = 0,9999	Z = 4,5397
A = 03,60 10 ³	PEu/gss
AL = 00,67 10 ³	PEu/gss

Tabela A18 - Resistência Térmica Laranja Valência

Tratamento a 90°C - Leitura a 70°C

Tempo de Retenção = 0,5min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,3344
R ₂ - 1,00	0,6286
R ₃ - 1,50	0,9383
R ₄ - 2,00	1,2619
R ₅ - 2,50	1,5839
Índices	
C = 0,9998	Z = 0,6265
A = 26,09 10 ³	PEu/gss
AL = 21,28 10 ³	PEu/gss

Tempo de Retenção = 01 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,7433
R ₂ - 1,00	1,4911
R ₃ - 1,50	2,1014
R ₄ - 2,00	2,8725
R ₅ - 2,50	3,6906
Índices	
C = 0,9988	Z = 1,4552
A = 11,23 10 ³	PEu/gss
AL = 06,42 10 ³	PEu/gss

Tempo de Retenção = 02 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	1,0969
R ₂ - 0,55	2,0383
R ₃ - 0,75	2,9644
R ₄ - 1,00	3,8661
R ₅ - 1,25	4,0883
Índices	
C = 0,9897	Z = 3,0442
A = 05,37 10 ³	PEu/gss
AL = 00,58 10 ³	PEu/gss

6.4.2 - LARANJA PÊRA RIO

Tabela A19 - Resistência Térmica Laranja Pêra Rio

Tratamento a 60°C - Leitura a 60°C

Tempo de Retenção = 01 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,50	0,3518
R ₂ - 2,50	0,5594
R ₃ - 4,00	0,9317
R ₄ - 5,50	1,2449
R ₅ - 7,00	1,5862
Índices	
C = 0,9997 Z = 0,2254	
A = 75,01 10 ³ PEu/gss	
AL = 72,03 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 03 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 2,00	0,5482
R ₂ - 3,00	0,8517
R ₃ - 4,00	1,1381
R ₄ - 5,00	1,4165
R ₅ - 6,00	1,6898
Índices	
C = 0,9998 Z = 0,2848	
A = 59,36 10 ³ PEu/gss	
AL = 56,38 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 05 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,5477
R ₂ - 2,00	1,1319
R ₃ - 3,00	1,7131
R ₄ - 4,00	2,2708
R ₅ - 5,00	2,8075
Índices	
C = 0,9998 Z = 0,5659	
A = 29,88 10 ³ PEu/gss	
AL = 26,90 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 10 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,5340
R ₂ - 1,00	1,0457
R ₃ - 1,50	1,6340
R ₄ - 2,00	2,1312
R ₅ - 2,50	2,6687
Índices	
C = 0,9997 Z = 1,0707	
A = 15,79 10 ³ PEu/gss	
AL = 12,81 10 ³ PEu/gss	

Tabela A20 - Resistência Térmica Laranja Pera Rio

Tratamento a 70°C - Leitura a 60°C

Tempo de Retenção = 0,5min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,1903
R ₂ - 2,50	0,7958
R ₃ - 5,00	1,4739
R ₄ - 6,00	1,7572
R ₅ - 7,50	2,1644
Índices	
C = 0,9998 Z = 0,2807	
A = 58,91 10 ³ PEu/gss	
AL = 55,88 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 01 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,3047
R ₂ - 2,00	0,6197
R ₃ - 3,00	0,9047
R ₄ - 4,00	1,1864
R ₅ - 5,00	1,4922
Índices	
C = 0,9998 Z = 0,2942	
A = 57,47 10 ³ PEu/gss	
AL = 54,44 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 03 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,5722
R ₂ - 1,00	1,1092
R ₃ - 1,50	1,6592
R ₄ - 2,00	2,1900
R ₅ - 2,50	2,6819
Índices	
C = 0,9996 Z = 1,0520	
A = 16,07 10 ³ PEu/gss	
AL = 12,78 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 05 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,8811
R ₂ - 1,00	1,6550
R ₃ - 1,25	2,0681
R ₄ - 1,50	2,3994
R ₅ - 1,75	2,6953
Índices	
C = 0,9981 Z = 1,4485	
A = 11,40 10 ³ PEu/gss	
AL = 8,44 10 ³ PEu/gss	

Tabela A20 - Continuação

Tempo de Retenção = 10 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,4008
R ₂ - 0,50	0,9231
R ₃ - 0,75	1,4539
R ₄ - 1,00	1,9408
R ₅ - 1,25	2,3197
Índices	
C = 0,9981 Z = 1,9424	
A = 8,70 10 ³ PEu/gss	
AL = 5,27 10 ³ PEu/gss	

Tabela A21 - Resistência Térmica Laranja Pêra Rio

Tratamento a 80°C - Leitura a 60°C

Tempo de Retenção = 0,5min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,1908
R ₂ - 2,00	0,6708
R ₃ - 3,00	0,9794
R ₄ - 4,00	1,2775
R ₅ - 5,00	1,5497
Índices	
C = 0,9995 Z = 0,2986	
A = 58,62 10 ³ PEu/gss	
AL = 53,59 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 01 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,4681
R ₂ - 1,00	0,8542
R ₃ - 1,50	1,2953
R ₄ - 2,00	1,6453
R ₅ - 2,50	2,0392
Índices	
C = 0,9995 Z = 0,7867	
A = 21,49 10 ³ PEu/gss	
AL = 18,34 10 ³ PEu/gss	

Tabela A21 - Continuação

Tempo de Retenção = 03 min		
V _{NaOH} (ml)		t (min)
R ₁ -	0,25	1,1250
R ₂ -	0,50	2,1272
R ₃ -	0,75	2,8539
R ₄ -	1,00	3,6067
R ₅ -	1,25	4,2611
Índices		
C = 0,9968		Z = 2,7744
A = 06,09 10 ³		PEu/gss
AL = 02,94 10 ³		PEu/gss

Tempo de Retenção = 05 min		
V _{NaOH} (ml)		t (min)
R ₁ -	0,25	0,7883
R ₂ -	0,50	1,5197
R ₃ -	1,00	2,7100
R ₄ -	1,50	4,2583
R ₅ -	2,00	5,8494
Índices		
C = 0,9985		Z = 2,8640
A = 05,90 10 ³		PEu/gss
AL = 02,75 10 ³		PEu/gss

Tempo de Retenção = 10 min		
V _{NaOH} (ml)		t (min)
R ₁ -	0,25	0,7792
R ₂ -	0,50	1,5588
R ₃ -	0,75	2,3400
R ₄ -	1,00	3,1119
R ₅ -	1,25	3,9002
Índices		
C = 0,9998		Z = 3,1180
A = 05,42 10 ³		PEu/gss
AL = 02,27 10 ³		PEu/gss

Tabela A22 - Resistência Térmica Laranja Pêra Rio

Tratamento a 90°C - Leitura a 60°C

Tempo de Retenção = 0,5min		
V _{NaOH} (ml)		t(min)
R ₁ -	1,00	0,4263
R ₂ -	2,00	0,8094
R ₃ -	3,00	1,2337
R ₄ -	4,00	1,5998
R ₅ -	5,00	2,0431
Índices		
C = 0,9996		Z = 0,4024
A = 42,01 10 ³		PEu/gss
AL = 39,03 10 ³		PEu/gss

Tempo de Retenção = 01 min		
V _{NaOH} (ml)		t(min)
R ₁ -	0,50	0,5092
R ₂ -	1,00	1,0108
R ₃ -	1,50	1,4820
R ₄ -	2,00	2,0186
R ₅ -	2,50	2,4979
Índices		
C = 0,9998		Z = 0,9970
A = 16,96 10 ³		PEu/gss
AL = 13,97 10 ³		PEu/gss

Tempo de Retenção = 1,5min		
V _{NaOH} (ml)		t(min)
R ₁ -	0,25	0,8713
R ₂ -	0,50	1,7614
R ₃ -	0,75	2,6282
R ₄ -	1,00	3,5111
R ₅ -	1,25	4,3783
Índices		
C = 1,0000		Z = 3,5055
A = 04,82 10 ³		PEu/gss
AL = 01,84 10 ³		PEu/gss

6.4.3 - LARANJA PÊRA COROA

Para os testes de resistência térmica com a laranja Pêra Coroa, foi necessária a preparação de um segundo lote de amostras, uma vez que o lote original foi perdido durante uma falha na rede elétrica que alimentava o "freezer" onde ele estava estocado, durante um fim de semana.

- LARANJA PÊRA COROA (LOTE 2)

Características {

- Brix = 10,6°
- Acidez = 1,11g/100g
- Brix corrigido = 10,82°
- Relação Brix/acidez = 9,7:1

Tabela A23 - Resistência Térmica Laranja Pêra Coroa

Tratamento a 60°C - Leitura a 60°C

Tempo de Retenção = 00* min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,2417
R ₂ - 1,00	0,4539
R ₃ - 2,50	1,0144
R ₄ - 3,50	1,4106
R ₅ - 4,50	1,7506
Índices	
C = 0,9997 Z = 0,3781	
A = 45,96 10 ³ PEu/gss	
AL = 42,85 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 01 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,2417
R ₂ - 1,00	0,5097
R ₃ - 1,50	0,7567
R ₄ - 2,00	1,0503
R ₅ - 3,25	1,7567
Índices	
C = 0,9997 Z = 0,5518	
A = 31,49 10 ³ PEu/gss	
AL = 28,37 10 ³ PEu/gss	

* - sem tratamento térmico

Tabela A23 - Continuação

Tempo de Retenção = 03 min		
V_{NaOH} (ml)		t(min)
R ₁ -	0,50	0,6933
R ₂ -	1,00	1,3347
R ₃ -	1,50	2,3022
R ₄ -	1,75	2,9747
R ₅ -	2,00	3,6383
Índices		
C = 0,9915		Z = 2,0457
A = 08,50 10 ³		PEu/gss
AL = 05,38 10 ³		PEu/gss

Tempo de Retenção = 05 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,6872
R ₂ - 0,50	1,2558
R ₃ - 0,80	1,9852
R ₄ - 1,00	2,4994
R ₅ - 1,25	3,1125
Índices	
C = 0,9987 Z = 2,3462	
A = 07,41 10 ³ PEu/gss	
AL = 04,29 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 07 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,2533
R ₂ - 0,50	0,9772
R ₃ - 0,75	1,6144
R ₄ - 1,00	2,2839
R ₅ - 1,50	3,6494
Índices	
C = 0,9999	Z = 2,7023
A = 06,43 10 ³	PEu/gss
AL = 03,32 10 ³	PEu/gss

Tempo de Retenção = 10 min	
V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,25	0,6486
R ₂ - 0,50	1,4061
R ₃ - 0,75	2,1714
R ₄ - 1,00	2,9414
R ₅ - 1,30	3,6844
Índices	
C = 0,9991	Z = 2,9209
A = 05,95 10 ³	PEu/gss
AL = 02,83 10 ³	PEu/gss

Tabela A24 - Resistência Térmica Laranja Pêra Coroa

Tratamento a 70°C - Leitura a 60°C

Tempo de Retenção = 01 min		
V _{NaOH} (ml)		t (min)
R ₁	- 0,25	0,5178
R ₂	- 0,50	1,0731
R ₃	- 0,75	1,4864
R ₄	- 1,00	2,0164
R ₅	- 1,25	2,3767
Índices		
C = 0,9978		Z = 1,8644
A = 09,32 10 ³		PEu/gss
AL = 06,21 10 ³		PEu/gss

Tempo de Retenção = 02 min		
V _{NaOH} (ml)		t (min)
R ₁ -	0,25	0,4925
R ₂ -	0,50	1,0522
R ₃ -	0,75	1,5417
R ₄ -	1,00	2,2039
R ₅ -	1,25	2,9442
Índices		
C =	0,9967	Z = 2,4220
A =	07,18 10 ³	PEu/gss
AL =	04,06 10 ³	PEu/gss

Tempo de Retenção = 03 min		
V NaOH (ml)		t(min)
R ₁	- 0,25	0,7059
R ₂	- 0,50	1,3926
R ₃	- 0,75	2,1189
R ₄	- 1,75	4,8942
R ₅	- 2,00	5,6961
Índices		
C = 0,9999		Z = 2,8334
A = 06,13 10 ³		PEu/gss
AL = 03,02 10 ³		PEu/gss

Tempo de Retenção = 04 min		
V _{NaOH} (ml)		t (min)
R ₁	- 0,25	0,4594
R ₂	- 0,75	2,1250
R ₃	- 1,00	2,9111
R ₄	- 1,25	3,5700
R ₅	- 1,50	4,3925
Índices		
C	= 0,9993	Z = 3,1198
A	= 05,36 10 ³	PEu/gss
AL	= 02,24 10 ³	PEu/gss

Tabela A24 - Continuação

Tempo de Retenção = 07 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,9048
R ₂ - 0,50	1,7988
R ₃ - 0,75	2,7072
R ₄ - 1,00	3,6811
R ₅ - 1,25	4,5003
Índices	
C = 0,9997 Z = 3,6293	
A = 04,79 10 ³ PEu/gss	
AL = 01,68 10 ³ PEu/gss	

Tabela A25 - Resistência Térmica Laranja Pêra Coroa
Tratamento a 80°C - Leitura a 60°C

Tempo de Retenção = 0,5min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,7108
R ₂ - 1,00	1,0744
R ₃ - 1,50	1,3933
R ₄ - 2,00	1,7572
R ₅ - 2,50	2,1225
Índices	
C = 0,9998 Z = 0,6960	
A = 24,97 10 ³ PEu/gss	
AL = 21,85 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 01 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	1,0267
R ₂ - 0,75	1,5064
R ₃ - 1,00	1,8914
R ₄ - 1,25	2,3144
R ₅ - 1,50	2,9764
Índices	
C = 0,9949 Z = 1,8830	
A = 09,23 10 ³ PEu/gss	
AL = 06,11 10 ³ PEu/gss	

Tabela A25 - Continuação

Tempo de Retenção = 03 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	2,3697
R ₂ - 0,75	3,7531
R ₃ - 1,00	4,7250
R ₄ - 1,25	6,4169
R ₅ - 1,50	7,6250
Índices	
C = 0,9975 Z = 5,2698	
A = 03,30 10 ³ PEu/gas	
AL = 00,18 10 ³ PEu/gas	

Tabela A26 - Resistência Térmica Laranja Péra Coroa

Tratamento a 90°C - Leitura a 60°C

Tempo de Retenção = 0,5min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	1,1181
R ₂ - 1,00	1,7872
R ₃ - 1,50	2,4075
R ₄ - 2,00	3,0864
R ₅ - 2,50	3,7436
Índices	
C = 0,9999 Z = 1,3060	
A = 13,31 10 ³ PEu/gas	
AL = 10,19 10 ³ PEu/gas	

Tempo de Retenção = 01 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	1,2506
R ₂ - 0,50	1,9033
R ₃ - 0,75	2,5953
R ₄ - 1,00	3,8331
R ₅ - 1,25	5,0722
Índices	
C = 0,9978 Z = 3,8292	
A = 04,54 10 ³ PEu/gas	
AL = 01,42 10 ³ PEu/gas	

6.4.4 - LARANJA NATAL

Tabela A27 - Resistência Térmica Laranja Natal

Tratamento a 60°C - Leitura a 60°C

Tempo de Retenção = 0,5min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 2,00	0,2608
R ₂ - 4,00	0,5172
R ₃ - 6,00	0,7839
R ₄ - 8,00	1,0328
R ₅ - 10,00	1,2775
Índices	
C = 0,9999 Z = 0,1267	
A = 131,32 10 ³ PEu/gss	
AL = 128,33 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 01 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 2,00	0,2400
R ₂ - 4,00	0,4847
R ₃ - 7,50	0,9383
R ₄ - 10,00	1,2608
R ₅ - -	-
Índices	
C = 0,9999 Z = 0,1280	
A = 129,98 10 ³ PEu/gss	
AL = 127,00 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 03 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 2,00	0,3700
R ₂ - 4,00	0,7250
R ₃ - 5,50	0,9803
R ₄ - 7,50	1,3356
R ₅ - 9,00	1,6128
Índices	
C = 0,9999 Z = 0,1769	
A = 94,05 10 ³ PEu/gss	
AL = 91,07 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 05 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,2178
R ₂ - 2,00	0,4319
R ₃ - 3,00	0,6608
R ₄ - 5,00	1,0706
R ₅ - 6,50	1,3672
Índices	
C = 0,9997 Z = 0,2092	
A = 79,53 10 ³ PEu/gss	
AL = 76,55 10 ³ PEu/gss	

Tabela A27 - Continuação

Tempo de Retenção = 10 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,1431
R ₂ - 2,00	0,5353
R ₃ - 4,00	1,0408
R ₄ - 5,00	1,2792
R ₅ - 6,00	1,5231
Índices	
C = 0,9999 Z = 0,2567	
A = 66,36 10 ³ PEu/g _{ss}	
AL = 63,38 10 ³ PEu/g _{ss}	

Tabela A28 - Resistência Térmica Laranja Natal

Tratamento a 70°C - Leitura a 60°C

Tempo de Retenção = 01 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 2,00	0,2854
R ₂ - 4,00	0,5858
R ₃ - 6,10	0,8905
R ₄ - 8,00	1,2288
R ₅ - 10,00	1,4071
Índices	
C = 0,9967 Z = 0,1441	
A = 115,43 10 ³ PEu/g _{ss}	
AL = 112,45 10 ³ PEu/g _{ss}	

Tempo de Retenção = 03 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,3800
R ₂ - 2,00	0,8100
R ₃ - 3,00	1,3178
R ₄ - 4,00	1,8336
R ₅ - 5,00	2,3486
Índices	
C = 0,9997 Z = 0,5001	
A = 33,27 10 ³ PEu/g _{ss}	
AL = 29,89 10 ³ PEu/g _{ss}	

Tabela A28 - Continuação

Tempo de Retenção = 05 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,55	0,4794
R ₂ - 1,00	0,8644
R ₃ - 1,50	1,2567
R ₄ - 2,00	1,6681
R ₅ - 2,50	2,0889
Índices	
C = 0,9999	Z = 0,8209
A = 20,27 10 ³	PEu/gss
AL = 17,28 10 ³	PEu/gss

Tempo de Retenção = 07 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,2414
R ₂ - 0,50	0,4853
R ₃ - 0,75	0,7539
R ₄ - 1,00	0,9803
R ₅ - 1,50	1,4400
Índices	
C = 0,9996	Z = 0,9421
A = 17,66 10 ³	PEu/gss
AL = 14,56 10 ³	PEu/gss

Tabela A29 - Resistência Térmica Laranja Natal

Tratamento a 80°C - Leitura a 60°C

Tempo de Retenção = 0,5min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 3,00	0,2899
R ₂ - 5,00	0,5467
R ₃ - 8,00	1,0047
R ₄ - 10,00	1,3203
R ₅ - -	-
Índices	
C = 0,9994	Z = 0,1472
A = 113,02 10 ³	PEu/gss
AL = 110,04 10 ³	PEu/gss

Tempo de Retenção = 01 min	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,2950
R ₂ - 1,00	0,5889
R ₃ - 2,00	1,0869
R ₄ - 3,00	1,5742
R ₅ - 4,00	2,0703
Índices	
C = 0,9997	Z = 0,5027
A = 33,10 10 ³	PEu/gss
AL = 29,99 10 ³	PEu/gss

Tabela A29 - Continuação

Tempo de Retenção = 03 min		Tempo de Retenção = 05 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)	V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,8556	R ₁ - 0,25	0,5208
R ₂ - 0,75	0,5889	R ₂ - 0,50	0,9364
R ₃ - 1,50	1,0869	R ₃ - 0,75	1,3583
R ₄ - 1,75	1,5742	R ₄ - 1,00	1,7417
R ₅ - 2,00	2,0703	R ₅ - 1,25	2,1014
Índices		Índices	
C = 0,9978 Z = 1,3790		C = 0,9994 Z = 1,5866	
A = 12,06 10 ³ PEu/gss		A = 10,49 10 ³ PEu/gss	
AL = 08,96 10 ³ PEu/gss		AL = 07,38 10 ³ PEu/gss	

Tempo de Retenção = 07 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,5031
R ₂ - 0,50	0,9547
R ₃ - 0,75	1,4311
R ₄ - 1,00	1,8381
R ₅ - 1,25	2,2564
Índices	
C = 0,9995 Z = 1,7560	
A = 09,47 10 ³ PEu/gss	
AL = 06,37 10 ³ PEu/gss	

Tabela A30 - Resistência Térmica Laranja Natal

Tratamento a 90°C - Leitura a 60°C

Tempo de Retenção = 0,5min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,75	0,3178
R ₂ - 2,00	0,7939
R ₃ - 3,00	1,1389
R ₄ - 4,00	1,4742
R ₅ - 5,00	1,7722
Índices	
C = 0,9989	Z = 0,3425
A = 48,58 10 ³	PEu/gss
AL = 45,59 10 ³	PEu/gss

Tempo de Retenção = 01 min	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	1,0408
R ₂ - 0,50	2,0444
R ₃ - 0,75	2,6697
R ₄ - 1,00	3,2872
R ₅ - 1,25	3,8214
Índices	
C = 0,9930	Z = 2,5840
A = 06,44 10 ³	PEu/gss
AL = 03,45 10 ³	PEu/gss

6.5 - DADOS DE ATIVIDADE VERSUS pH

6.5.1 - LARANJA PÊRA RIO

Tabela A31 - Atividade x pH. Laranja Pêra Rio

pH = 4,0	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	1,6186
R ₂ - 0,50	3,7072
R ₃ - 0,75	7,3167
R ₄ - 0,85	9,5942
R ₅ - 1,00	11,5064
Índices	
C = 0,9897	Z = 13,5959
A = 01,34 10 ³	PEu/gss

pH = 5,0	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	1,2856
R ₂ - 0,75	1,9567
R ₃ - 1,00	2,4619
R ₄ - 1,25	2,9986
R ₅ - 1,50	3,5156
Índices	
C = 0,9986	Z = 2,2012
A = 08,27 10 ³	PEu/gss

Tabela A31 - Continuação

pH = 6,0	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,75	0,5722
R ₂ - 4,00	1,2347
R ₃ - 6,00	1,8283
R ₄ - 7,50	2,2292
R ₅ - 9,00	2,6897
Indices	
C = 0,9999 Z = 0,2907	
A = 62,61 10 ³ PEu/gss	

pH = 7,0	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,1750
R ₂ - 3,00	0,5286
R ₃ - 5,00	0,8750
R ₄ - 7,00	1,2067
R ₅ - 9,00	1,5364
Indices	
C = 0,9999 Z = 0,1700	
A = 107,06 10 ³ PEu/gss	

pH = 7,5	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 5,00	0,7775
R ₂ - 10,00	1,3933
R ₃ - 15,00	2,1908
R ₄ - 20,00	2,8600
R ₅ - 24,00	3,3742
Indices	
C = 0,9995 Z = 0,1388	
A = 131,12 10 ³ PEu/gss	

pH = 8,0	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 2,00	0,2672
R ₂ - 4,00	0,5714
R ₃ - 6,00	0,8339
R ₄ - 8,00	1,0131
R ₅ - 10,00	1,3828
Indices	
C = 0,9997 Z = 0,1381	
A = 131,78 10 ³ PEu/gss	

6.5.2 - LARANJA VALENCIA

Tabela A32 - Atividade x pH. Laranja Valência

pH = 3,5	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	2,8047
R ₂ - 1,00	8,0458
R ₃ - 1,25	10,9250
R ₄ - 1,50	15,7389
R ₅ - 1,75	20,0214
Indices	
C = 0,9679 Z = 11,2323	
A = 01,45 10 ³ PEu/gss	

pH = 4,0	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	4,3575
R ₂ - 0,75	6,8547
R ₃ - 1,00	8,4303
R ₄ - -	-
R ₅ - -	-
Indices	
C = 0,9998 Z = 4,1375	
A = 02,00 10 ³ PEu/gss	

pH = 5,0	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	1,0414
R ₂ - 0,50	2,0417
R ₃ - 0,75	3,0900
R ₄ - 1,00	4,1900
R ₅ - 1,25	5,1392
Indices	
C = 0,9998 Z = 4,1375	
A = 03,90 10 ³ PEu/gss	

pH = 6,0	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,6267
R ₂ - 2,00	1,2075
R ₃ - 3,00	1,7442
R ₄ - 4,00	2,2572
R ₅ - 5,00	2,7283
Indices	
C = 0,9992 Z = 0,5253	
A = 31,08 10 ³ PEu/gss	

pH = 7,0	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,3222
R ₂ - 2,00	0,6339
R ₃ - 3,00	0,9453
R ₄ - 4,00	1,2400
R ₅ - 5,00	1,5250
Indices	
C = 0,9998 Z = 0,3012	
A = 54,20 10 ³ PEu/gss	

pH = 7,5	
V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 2,00	0,3864
R ₂ - 4,00	0,8275
R ₃ - 6,00	1,2300
R ₄ - 8,00	1,6059
R ₅ - 10,00	1,9839
Indices	
C = 0,9994 Z = 0,1988	
A = 82,12 10 ³ PEu/gss	

Tabela A32 - Continuação

pH = 8,0	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,2022
R ₂ - 2,00	0,3881
R ₃ - 4,00	0,7383
R ₄ - 8,50	1,4444
R ₅ - 10,00	1,6858
Indices	
C = 0,9997 Z = 0,1634	
A = 99,91 10 ³ PEu/gss	

6.5.3 - LARANJA PÊRA COROA

Tabela A33 - Atividade x pH. Laranja Pêra Coroa

pH = 4,0	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	2,9872
R ₂ - 0,75	5,2847
R ₃ - 1,00	8,3414
R ₄ - 1,25	12,2764
R ₅ - 1,50	17,4600
Indices	
C = 0,9879 Z = 14,3749	
A = 01,21 10 ³ PEu/gss	

pH = 5,0	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,6775
R ₂ - 0,50	1,3189
R ₃ - 0,75	2,2408
R ₄ - 1,00	3,2225
R ₅ - 1,25	4,2250
Indices	
C = 0,9969 Z = 3,5994	
A = 04,83 10 ³ PEu/gss	

Tabela A33 - Continuação

pH = 6,0	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,25	0,3400
R ₂ - 0,50	0,7917
R ₃ - 0,75	1,1942
R ₄ - 1,00	1,6881
R ₅ - 1,25	1,9636
Indices	
C = 0,9969 Z = 1,6574	
A = 10,48 10 ⁹ PEu/gss	

pH = 7,0	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,5056
R ₂ - 1,00	0,9839
R ₃ - 1,50	1,4722
R ₄ - 2,00	1,9433
R ₅ - 2,50	2,4178
Indices	
C = 1,0000 Z = 0,9569	
A = 18,16 10 ⁹ PEu/gss	

pH = 7,5	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,4442
R ₂ - 1,00	0,8847
R ₃ - 1,50	1,3617
R ₄ - 2,00	1,7694
R ₅ - 2,50	2,1925
Indices	
C = 0,9997 Z = 0,8763	
A = 19,83 10 ⁹ PEu/gss	

pH = 8,0	
V_{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 0,50	0,4197
R ₂ - 1,00	0,8783
R ₃ - 1,50	1,2925
R ₄ - 2,00	1,7450
R ₅ - 2,50	2,1772
Indices	
C = 0,9999 Z = 0,8763	
A = 19,83 10 ⁹ PEu/gss	

6.5.4 - LARANJA NATAL

Tabela A34 - Atividade x pH. Laranja Natal

pH = 4,0		pH = 5,0	
V _{NaOH} (ml)	t (min)	V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,20	4,9767	R ₁ - 0,20	1,5397
R ₂ - 0,30	6,5672	R ₂ - 0,40	2,7442
R ₃ - 0,40	8,5058	R ₃ - 0,60	3,8372
R ₄ - 0,50	11,5775	R ₄ - 0,80	4,8106
R ₅ - 0,60	17,4172	R ₅ - 1,00	5,9906
Indices		Indices	
C = 0,9509 Z = 8,8778		C = 0,9994 Z = 5,4841	
A = 1,86 10 ³ PEu/gss		A = 3,01 10 ³ PEu/gss	

pH = 6,0		pH = 7,0	
V _{NaOH} (ml)	t (min)	V _{NaOH} (ml)	t (min)
R ₁ - 0,50	0,6444	R ₁ - 1,00	0,5608
R ₂ - 1,00	1,1933	R ₂ - 2,00	1,0950
R ₃ - 1,50	1,7033	R ₃ - 3,00	1,6397
R ₄ - 2,00	2,3022	R ₄ - 4,00	2,1739
R ₅ - 2,50	2,8367	R ₅ - 5,00	2,7264
Indices		Indices	
C = 0,9998 Z = 1,0987		C = 1,0000 Z = 0,5410	
A = 15,01 10 ³ PEu/gss		A = 30,48 10 ³ PEu/gss	

Tabela A34 - Continuação

pH = 7,5		pH = 8,0	
V _{NaOH} (ml)	t(min)	V _{NaOH} (ml)	t(min)
R ₁ - 1,00	0,7747	R ₁ - 1,00	0,6411
R ₂ - 1,50	1,1442	R ₂ - 1,50	0,9600
R ₃ - 2,00	1,4839	R ₃ - 2,00	1,3581
R ₄ - 2,50	1,8889	R ₄ - 3,00	2,0414
R ₅ - 3,00	2,2372	R ₅ - 3,50	2,3917
Indices		Indices	
C = 0,9997 Z = 0,7339		C = 0,9997 Z = 0,7047	
A = 22,47 10 ⁹ PEu/gas		A = 23,40 10 ⁹ PEu/gas	

VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ABRASUCOS. Associação Brasileira de Sucos Cítricos. 1991
02. ANÔNIMO. A festa no laranjal. Veja 1210 (48) : 98, 1991
03. ATKINS, C. D. & ROUSE, A. H. Time-temperature relationships for heat inactivation of pectinesterase in citrus juices. Food Technology 7 (12) : 489-491, 1953
04. ATKINS, C. D. & ROUSE, A. H. Time-temperature-concentration relationships for heat inactivation of pectinesterase in citrus juices. Food Technology 8 (11) : 498-500, 1954
05. BAKER, R. A. & BRUEMMER, J. H. Pectinase stabilization of orange juice cloud. Journal of Agricultural and Food Chemistry 20 (6) : 1169-1173, 1972
06. BAKER, R. A. Clarification with low methoxyl pectins. Proc. Florida State Hort. Society 89 : 163, 1976
07. BAKER, R. A. Clarifying properties of pectin fractions separated by ester content. Journal of Agricultural and Food Chemistry 27 (6) : 1387-1389, 1979
08. BARTOLOME, L. G. & HOFF, J. E. Gas chromatographic methods for assay of pectin methylesterase, free methanol and methoxy groups in plant tissues. Journal of Agricultural and Food Chemistry 20 (2) : 262-267, 1972

09. BERRY, R. E. & VELDHUIS, M. K. Processing of oranges, grapefruit and tangerines. In : NAGY, S.; SHAW, P. E. & VELDHUIS, M. K. Citrus Science and Technology, Vol.2 , Westport : The AVI Publishing Company, 1977. Cap. 4, p. 177-201
10. BRANCO, A. O mistério do suco de laranja Exame 484 (15) : 52-53, 1991
11. CARROL, E. A.; GUYER, R. B.; BISSETT, O. W. & VELDHUIS, M. K. Stability of frozen concentrated orange juice. V. The effect of heat treatment at intermediate stages of concentration on juices prepared from Valencia oranges. Food Technology 11 (10) : 516-519, 1957
12. COOK, R. Quality of citrus juices as related to composition and processing practices. Food Technology 37 (6) : 68-71, 1983
13. CRANDALL, P. G.; MATTHEWS, R. F. & BAKER, R.A. Citrus beverage clouding agents - Review and Status. Food Technology 37 (12) : 106-109, 1983
14. DAHODWALA, S.; HUMPHREY, A. & WEIBEL, M. Pectic enzymes : individual and concerned kinetic behavior of pectinesterase and pectinase. Journal of Food Science 39 (5) : 920-926, 1974
15. EAGERMAN, B. A. & ROUSE, A. H. Heat inactivation temperature - time relationships for pectinesterase inactivation in citrus juices. Journal of Food Science 41 (6) : 1396-1397, 1976

16. FORTUNA, P. Cotação da laranja anima produtores brasileiros. Correio Popular, 5 de dezembro de 1991, p. 40
17. GIER SCHNER, I. K. Pectin and pectic enzymes in fruit and vegetable technology. Gordian International Journal for Food and Food Technology 7/8 : 171-176, 205-210, 1981
18. GRANATO, F. Laranja, a safra de 500 milhões de dólares. Jornal da Tarde, 27 de novembro de 1991, p.32
19. GUTFREUND, H. Introduccion al Estudio de los Enzimas, Barcelona: Ed. Omega S/A, 1968. Cap. 2, p. 74
20. GUYER, R. B.; MILLER, W. M. BISSETT, O. W. & VELDHUIS, M. K. Stability of frozen concentrated orange juice. I. The effect of heat treatment on enzyme inactivation and cloud stability of frozen concentrate made from Pineapple and Valencia oranges. Food Technology 10 (1) : 10-15, 1956
21. HOLLAND, R. R.; REEDER, S. K. & PRITCHET, D. E. Cloud stability test for pasteurized citrus juices. Journal of Food Science 41 () : 812-815, 1976
22. JANSEN, E. F.; JANG, R. & BONNER, J. Orange pectinesterase binding and activity. Journal of Food Research 25 (1) : 64-72, 1960
23. KEFFORD, J. F. & CHANDLER, B. V. The Chemical Constituents of Citrus Fruits, New York & London : Academic Press, 1970. Cap. 6, 7 & 8; p. 42-61

24. KELLER, G. J.; RICE, R. G.; MCCOLLOCH, R. J. & BEAVENS, E. A. Stabilization of frozen citrus concentrates by heat treatment. Food Technology 8 : 195, 1954
25. KIEFER, F. A new oxidative mechanism in the deteriorative changes of orange juice. Food Technology 15 (6) : 302-305, 1961
26. KÖRNER, B. ; ZIMMERMANN, G. & BERK, Z. Orange pectinesterase : purification, properties and effect on cloud stability. Journal of Food Science 45 (5) : 1203-1206, 1980
27. KROP, J. J. P. & PILNIK, W. Effect of pectic acid and bivalent cations on cloud loss of citrus juices Lebensmittel Wissenschaft und Technologie 7 (1) : 62-63, 1974
28. KROP, J. J. P.; PILNIK, W. & FADDEGON, J. M. The assay of pectinesterase by a direct gaschromatographic methanol determination - application to cloud loss studies in citrus juices. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie 7 (1) : 50-52, 1974
29. MARSHALL, M. R.; MARCY, J. E. & BRADDOCK, R. J. Effect of total solids level on heat inactivation of pectinesterase in orange juice. Journal of Food Science 50 (1) : 220-222, 1985
30. MAYORCA, H. & ROLZ, C. Pectinesterase activity as a function of pH, enzyme and cation concentrations. Journal of Agricultural and Food Chemistry 19 (1) : 179-181, 1971

31. McColloch, R. J.; Rice, R.G.; Gentil, B. & Beavens, E. A. Cloud stability of frozen superconcentrated citrus juices. Food Technology 10 (12) : 633-634, 1956
32. McCready, In: NAGY, S.; SHAW, P.E. & VELDHUIS, M. K. Citrus Science and Technology, Vol. 1, Westport: The AVI Publishing Company, 1977.
33. MIZRAHI, S. & BERK, Z. Physico-chemical characteristics of orange juice cloud. Journal of Science and Food Agric. 21: 250, 1970
34. MOORE, J. W. Físico - Química Vol. 1, São Paulo: Edit. Edgard Blücher, 1976. Cap. 9, p. 331
35. MORETTI, R. H. Apontamentos de Aula. Disciplina TP.166 - Tecnologia de Sucos Concentrados. FEA. UNICAMP, 1989
36. NAGY, S. Inorganic elements. In : NAGY, S.; SHAW, P.E. & VELDHUIS, M. K. Citrus Science and Technology, Vol 1, Westport : The AVI Publishing Company, 1977. Cap. 13, p. 479-495
37. NATH, N. & RANGANNA, S. Time / temperature relationship for thermal inactivation of pectinesterase in Mandarin orange (*Citrus reticulata* Blanco) juice. Journal of Food Technology 12 (4) : 411-419, 1977
38. O'MAHONY, M. Sensory Evaluation of Food. Statistical Methods and Procedures. New York: Marcel Dekker, Inc., 1985 cap. 7 p. 111-134

39. OWUSU - YAW, J.; MARSHALL, M. R.; KOBURGER, J. A. & WEI, C. I.
Low pH inactivation of pectinesterase in single strength
orange juice. Journal of Food Science 53 (2) : 504-507,
1988
40. PADIVAL, R. A.; RANGANNA, S. & MANJREKAR, S. P. Cloud
stabilization in citrus beverages by low methoxyl pectin.
Journal of Food Technology 15 (1) : 25-34, 1980
41. RAMANA, K. V. R.; GOVINDARAJAN, V. S. & RANGANA, S. Citrus
fruits - varieties, chemistry, technology and quality
evaluation. Part I : Varieties, production, handling and
storage. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 15
(12) : 353-419, 1981
42. RANGANNA, S.; GOVINDARAJAN, V. S. & RAMANA, K. V. R. Citrus
fruits - varieties, chemistry, technology and quality
evaluation. Part II : Chemistry, technology and quality
evaluation. Critical Reviews in Food Science and Nutrition
18 (12) : 313-386, 1983
43. RANGANNA, S.; GOVINDARAJAN, V. S. & RAMANA, K. V. R. Citrus
fruits - varieties, chemistry, technology and quality
evaluation. Part II : Chemistry, technology and quality
evaluation. B. Technology. Critical Reviews in Food Science
and Nutrition 19 (1) : 1-98, 1983
44. REED, J. B. Citrus processing around the world. Part 7.
Brazil. In : NAGY, S. SHAW, P. E. & VELDHUIS, M. K. Citrus
Science and Technology , Vol. 2 , Westport : The AVI
Publishing Company, 1977. Cap. , p. 641-653

45. REED, J. B.; HENDRIX Jr., C.M. & HENDRIX, D.L. Quality Control Manual for Citrus Processing Plants , Vol. 2 , Florida : Intercit , 1986. 250 p.
46. RODRIGUES, O. & VIEGAS, F. Citricultura Brasileira , Vol. 1 , Campinas : Fundação Cargill, 1980. p. 3-51
47. RODRIGUES, O. & VIEGAS, F. Citricultura Brasileira , Vol. 2 , Campinas : Fundação Cargill, 1980. p. 387-708
48. ROTHCHILD, G.; VLIET, C. V. & KARSENTY, A. Pasteurization conditions for juices and comminuted products of Israeli citrus fruits. Journal of Food Technology 10 (1) : 29-38, 1975
49. ROUSE, A. H. Characteristics of oranges from 5-year-old trees. Citrus Industry 49 (10) : 7-8, 1968
50. ROUSE, A. H. Pectin : distribution, significance. In : NAGY, S.; SHAW, P. E. & VELDHUIS, M. K. Citrus Science and Technology , Vol. 1 , Westport : The AVI Publishing Company, 1977. Cap. 4 , p. 110-179
51. ROUSE, A. H. & ATKINS, C. D. Heat inactivation of pectinesterase in citrus juices. Food Technology 6 (8) : 291-294, 1952
52. ROUSE, A. H. & ATKINS, C. D. Further results from a study on heat inactivation of pectinesterase in citrus juices. Food Technology 7 (6) : 221-223, 1953

53. ROUSE, A. H.; ATKINS, C. D. & MOORE, E.L. Seasonal changes occurring in the pectinesterase activity and pectic constituents of the component parts of citrus fruits. I. Valencia oranges. Journal of Food Science 27 (5) : 419-425, 1962
54. ROUSE, A. H.; ATKINS, C. D. & MOORE, E.L. Seasonal changes occurring in the pectinesterase activity and pectic constituents of the component parts of citrus fruits. II. Pineapple oranges. Journal of Food Science 29 (1) : 34 - 39, 1964
55. SALUNKHE, D. K. & DESAI, B. B. Postharvest Biotechnology of Fruits , Vol. 1 , Florida : CRC Press Inc. Boca Ranton. Cap. 5, 1984. p. 59-75
56. SCAMPARINI, A. R. P. & BOBBIO, F. O. Deesterification of citrus pectin. Industrie Alimentari 191(2) : 110-112, 1982
57. SCHWIMMER, S. Source Book of Food Enzymology. Westport : The AVI Publishing Company, 1981. Cap. . p.
58. SOMOGY, L. P. & ROMANI, R. J. A simplified technique for the determination of pectin methylesterase activity. Anal. Biochemistry 8 : 498, 1964
59. TERMOTE, F.; ROMBOUTS, F. M. & PILNIK, W. Stabilization of cloud in pectinesterase active orange juice by pectic acid hydrolisates. Journal of Food Biochemistry 1 (1) : 15-34, 1977

60. VANDERCOOK, C. E. Nitrogenous compounds In : NAGY, S.; SHAW, P. E. & VELDHUIS, M. K. Citrus Science and Technology, Vol 1, Westport : The AVI Publishing Company , 1977. Cap. 6. p. 248-252
61. VERSTEEG, C. ; ROMBOUTS, F. M. & PILNIK, W. Purification and some characteristics of two pectinesterase isoenzymes from orange. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie 11 (5) : 267-274, 1978
62. VERSTEEG, C. ; ROMBOUTS, F. M. ; SPAANSEN, C. H. & PILNIK, W. Thermostability and orange juice cloud destabilizing properties of multiple pectinesterases from orange. Journal of Food Science 45 (4) : 969-975, 998, 1980
63. WICKER, L.; BRADDOCK, R. J. & VASSALLO, M. Effect of assay temperature on activity of citrus pectinesterase in fresh orange juice. Journal of Food Science 52 (2) : 378-380, 1987
64. WICKER, L. & TEMELLI, F. Heat inactivation of pectinesterase in orange juice pulp. Journal of Food Science 53 (1) : 162-164, 1988
65. WICKER, L.; VASSALLO, M. R. & ECHEVERRIA, E. J. Solubilization of cell wall bound, thermostable pectinesterase from Valencia orange. Journal of Food Science 53 (4) : 1171-1174, 1988
66. WOOD, P. J. & SIDDIGNI, L.R. Determination of methanol and its application to measurement of pectin ester content and methyl esterase activity. Anal. Biochemistry 39 : 418, 1971