



UNICAMP

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

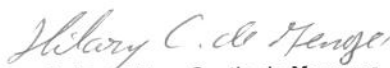
**INFLUÊNCIA DAS VARIEDADES CÍTRICAS (*Citrus sinensis* L.
Osbeck) NATAL, PÊRA-RIO E VALÊNCIA NA QUALIDADE DO
SUCO DE LARANJA PASTEURIZADO**

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Patrícia Brusantin Oliva** aprovada pela Comissão Julgadora em 19 de dezembro de 2002.

Patrícia Brusantin Oliva
Engenheira de Alimentos

Campinas, 19 de dezembro de 2002.


Profa. Dra. Hilary Castle de Menezes
Presidente da Banca

Profa. Dra. Hilary Castle de Menezes
Orientadora

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Doutor em Tecnologia de Alimentos.

Campinas – São Paulo

Dezembro – 2002

UNIDADE BC
Uⁿ
Nº CHAMADA T/UNICAMP
OL4i
V _____ EX _____
TOMBO BC/ 52727
PROC 16-124103
C _____ D 7
PREÇO R\$11,00
DATA 15/03/03
Nº CPD _____

CM00180985-5

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

OL4i Oliva, Patrícia Brusantin
Influência das variedades cítricas (*Citrus sinensis* L Osbeck)
Natal, Pêra-Rio e alência na qualidade do suco da laranja
pasteurizado / Patrícia Brusantin Oliva. – Campinas, SP: [s.n.],
2002.

Orientador: Hilary Castle Menezes
Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Suco de Laranja – Pasteurização. 2.Cítricos. 3.Avaliação
sensorial. 4.Variedades. I.Menezes, Hilary Castle de.
II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia
de Alimentos. III.Título.

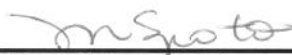
Membros da Banca Examinadora



Profa Dra. Hilary Castle de Menezes
(Orientadora)



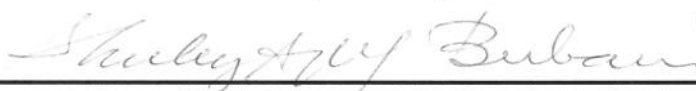
Prof. Dr. Carlos Alberto Rodrigues Anjos
(Membro)



Profa. Dra. Marta Helena Fillet Spoto
(Membro)



Dra. Mércia de Fátima Manente Bettini
(Membro)



Dra. Shirley Aparecida Garcia Berbari
(Membro)

Profa. Dra. Helena Maria André Bollini Cardello
(Membro)

Prof. Dr. Nelson Horácio Pezoa Garcia
(Membro)

Campinas, _____ de _____ de 2002.

“Se eu pudesse deixar algum presente a você, deixaria aceso o
sentimento de amar a vida dos seres humanos.

A consciência de aprender tudo o que foi ensinado pelo tempo afora....
Lembraria os erros que foram cometidos para que não mais se
repetissem.

A capacidade de escolher novos rumos.
Deixaria para você, se pudesse, o respeito àquilo que é indispensável;
Além do pão, o trabalho.
Além do trabalho, a ação.

E, quando tudo mais faltasse, um segredo:
O de buscar no interior de si mesmo a resposta e a força para
encontrar a saída”

Mahatma Gandhi

À DEUS, Força Divina da Natureza. Porque o sol nasce todos os dias e temos nova chance de melhorar. Existem momentos em que não podemos explicar como conseguimos suportar e vencer os desafios da vida, tudo isso, com certeza é por ação DELE, nosso Anjo da Guarda e Protetor.

Aos meus carinhosos filhos: Taís, Matheus e Victor, maiores presentes que Deus me permitiu desfrutar e que enchem de alegria minha vida.

Ao meu marido e companheiro Pedro, pelo apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Édie e Mabel, pelo empenho e esforço em dar o melhor de si e mostrar que o estudo é a chave para o futuro.

À Prof^a. Dra. Hilary Castle de Menezes que, mais uma vez, acreditou em minha capacidade profissional e com sua afeição, dedicação e disponibilidade possibilitou a realização deste trabalho. Serei sempre grata.

A todos os membros da banca examinadora pelas sugestões dadas por ocasião dos bonecos.

À Prof^a Dra. Helena Maria André B. Cardello e Prof. Dr. Nelson Horácio Pezoa Garcia pelas sugestões na ocasião do exame de qualificação e/ou correção dos bonecos.

Às Prof^{as}. Dr^{as} Maria Aparecida A. P. da Silva e Maria Izabel Rodriguez por ocasião das disciplinas cursadas no Doutorado, pelo exemplo de mestre e profissionalismo.

Aos Srs. João Guilherme Dias Iglesias e Márcio Ap. Pagnan que deram valiosas sugestões e possibilitaram a realização dos trabalhos experimentais na Usina Nova América/Guacho Agropecuária, fornecendo toda matéria prima e produto acabado.

Aos provadores da equipe descritiva que com muito boa vontade aceitaram participar e disponibilizaram seu tempo colaborando ativamente nos dados sensoriais.

À querida e estimada Ana Enpien Koon, técnica do Laboratório de Tecnologia de Frutas e Hortaliças da FEA/UNICAMP, alma serena e motivadora, sempre nos apoiando e incentivando.

À Prof^a. Dra. Marília Oetterer, ESALQ/USP, que me incentivou a seguir a carreira de Engenheiro de Alimentos, motivo de enorme satisfação e realização profissional de minha vida.

Ao Sr. Eduardo H. Ardilles e à Engenheira de Alimentos Elaine Michelin Lourenço, da Usina Nova América, por possibilitarem o uso do Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência, pelo apoio e doação dos padrões e reagentes.

Ao aluno de graduação da FEA, bolsista de iniciação científica da Fapesp, Rodrigo M. Bordin, pelo apoio na execução das análises químicas e sensoriais.

Aos todos os colegas de pós-graduação, em especial Luciane, Paulo, Gabriela, Selma e Wilma que sempre procuraram me incentivar.

Aos funcionários da Guacho Agropecuária que colaboraram com a seleção, colheita da matéria prima e processamento do suco.

Aos funcionários Marlene e Marcel (Secretaria do Departamento de Tecnologia de Alimentos), Cosme e Marcelo (Secretaria de Pós-graduação) e Creusa, Geraldo, Cláudia e Mara (Biblioteca), pelos serviços prestados.

À minha funcionária Alessandra que durante anos vêm cuidando de meus filhos com todo carinho e afeto, tornando menos penosa minha ausência.

Aos meus amigos, que souberam ouvir meus desabafos nos momentos difíceis e se alegrar nas conquistas de minha vida.

À Capes e Fapesp, pelo apoio financeiro.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para realização deste trabalho, e que num lapso de memória me esqueci: OBRIGADA!!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xvii
LISTA DE TABELAS.....	xxi
CAPÍTULO I: DETERMINAÇÃO DE LIMONIN EM SUCO DE LARANJA	
PASTEURIZADO.....	1
1. RESUMO.....	2
2. ABSTRACT.....	4
3. INTRODUÇÃO.....	6
3.1. Estrutura e Biossíntese.....	6
3.1.1. Aspectos Sensoriais.....	13
3.1.2. Identificação e Quantificação Limonóides.....	15
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.1. Material.....	19
4.1.1. Estudo da Variabilidade durante a safra.....	19
4.1.2. Estudo da Variabilidade entre duas safras	19
4.2. Métodos.....	20
4.2.1. Extração de Limonin.....	20
4.2.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.....	20
4.2.3. Análise Sensorial.....	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
5.1. Preparação da amostra e cromatografia líquida.....	23
5.2. Padrões.....	23
6. CONCLUSÕES.....	28
7. REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA.....	29
CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE SENSORIAL DO SUCO DE	
LARANJA (<i>Citrus sinensis</i> L. OSBECK) DE DIFERENTES VARIEDADES DE	
LARANJA ATRAVÉS DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA.....	
1. RESUMO.....	37
2. ABSTRACT.....	39

3. INTRODUÇÃO.....	41
3.1. Análise sensorial.....	42
3.1.1. Métodos discriminativos.....	43
3.1.2. Métodos descritivos.....	44
3.1.3. Métodos afetivos.....	45
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	47
4.1. Material.....	47
4.2. Métodos.....	47
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
5.1. Teste Descritivo.....	49
5.2. Teste Afetivo	62
6. CONCLUSÕES.....	67
7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	68

CAPÍTULO III: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ACEITAÇÃO SENSORIAL DO SUCO DE LARANJA (*Citrus sinensis* L. OSBECK) PASTEURIZADO OBTIDO DE DIFERENTES VARIEDADES CÍTRICAS.....

1. RESUMO.....	71
2. ABSTRACT.....	73
3. INTRODUÇÃO.....	77
3.1. Citricultura como agronegócio.....	77
3.2. Histórico.....	79
3.3. Suco de laranja.....	80
3.3.1. Tipos de suco.....	83
3.4. Estudos sobre alterações do suco.....	84
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	88
4.1. Material.....	88
4.2. Métodos.....	88
4.2.1. Etapas do processamento.....	88
4.2.2. Acido Ascórbico.....	90
4.2.3. Análise instrumental de cor.....	90

4.2.4. Análise de sólidos solúveis.....	90
4.2.5. Análise de acidez titulável.....	90
4.2.6. Relação sólidos solúveis/Acidez Titulável.....	90
4.2.7. Determinação de pH.....	99
4.2.8. Análise sensorial de aceitação (teste afetivo).....	90
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	91
5.1. Ácido ascórbico.....	93
5.2. Acidez titulável.....	96
5.3. Sólidos solúveis.....	98
5.4. Relação sólidos solúveis/acidez titulável.....	99
5.5. Índices de cor.....	102
5.5.1. Teste de aceitação do suco.....	106
5.5.2. Relação entre as características químicas e físico-químicas e aceitação sensorial das amostras.....	107
6. CONCLUSÕES.....	110
7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	111

CAPÍTULO IV: DETERMINAÇÃO DE FURFURAL EM SUCO DE LARANJA PASTEURIZADO119

1. RESUMO.....	121
2. ABSTRACT.....	123
3. INTRODUÇÃO.....	125
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	132
4.1. Material.....	132
4.2. Métodos.....	132
4.2.1 Métodos de extração 1.....	132
4.2.2. Métodos de extração 2.....	132
4.2.3 Condições cromatográficas.....	133
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	134
6 CONCLUSÕES.....	141

7	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	142
	ANEXOS.....	147

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I: DETERMINAÇÃO DE LIMONIN EM SUCO DE LARANJA PASTEURIZADO

Figura 1: Fluxograma de extração de Limonin.....	22
Figura 2: Curva de calibração do padrão de Limonin	24

CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE SENSORIAL DO SUCO DE LARANJA(*Citrus sinensis* L. Osbeck) DE DIFERENTES VARIEDADES DE LARANJA ATRAVÉS DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA

Figura 1: Definição dos termos descritores e referências utilizadas como extremos de escala de intensidade de aroma e sabor na análise descritiva de suco de laranja pasteurizado.....	50
Figura 2: Definição dos termos descritores e referências utilizadas como extremos de escala de intensidade de textura e aparência na análise descritiva de suco de laranja pasteurizado.....	51
Figura 3: Ficha de avaliação descritiva utilizada para ADQ de suco de laranja.....	52
Figura 4: Perfil Sensorial das amostras de suco de laranja Natal.....	55
Figura 5: Perfil Sensorial das amostras de suco de laranja Pêra-Rio.....	56
Figura 6: Perfil Sensorial das amostras de suco de laranja Valência.....	57
Figura 7: Projeção dos atributos sensoriais de sabor e aroma (vetores) e amostras (1 a 12) nos componentes principais I e II.....	59

CAPÍTULO III: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ACEITAÇÃO SENSORIAL DO SUCO DE LARANJA(*Citrus sinensis* L. OSBECK) PASTEURIZADO OBTIDO DE DIFERENTES VARIEDADES CÍTRICAS.

Figura 1: Fluxograma de processamento do suco de laranja pasteurizado acondicionado em embalagem cartonada.....	89
Figura 2: Ficha de Avaliação Sensorial do testes afetivos.....	91
Figura 3: Conteúdo de ácido ascórbico no suco de laranja obtido da variedade Natal.....	94
Figura 4: Conteúdo de ácido ascórbico no suco de laranja obtido da variedade Pêra.....	95
Figura 5: Conteúdo de ácido ascórbico no suco de laranja obtido da variedade Valência..	96
Figura 6: Variação da porcentagem de acidez durante a vida de prateleira dos sucos de laranja dos 4 diferentes lotes de laranja Natal	97
Figura 7: Variação da porcentagem de acidez durante a vida de prateleira dos sucos de laranja dos 4 diferentes lotes de laranja	97
Figura 8 : Variação da porcentagem de acidez durante a vida de prateleira dos Sucos de laranja dos 4 diferentes lotes de laranja Valência.....	98
Figura 9: Variação do Ratio durante a vida de prateleira dos sucos de laranja dos 4 diferentes lotes de laranja Natal.	100
Figura 10: Variação do Ratio durante a vida de prateleira dos sucos de laranja dos 4 diferentes Lotes de Laranja Pêra	101
Figura 11: Variação do Ratio durante a vida de prateleira dos sucos de laranja dos 4 diferentes lotes de laranja Valência.....	101
Figura 12: Projeção das características químicas e físico-químicas (vetores) e amostras de suco de laranja(1 a 12) nos componentes principais I e II.....	108

CAPÍTULO IV: DETERMINAÇÃO DE FURFURAL EM SUCO DE LARANJA PASTEURIZADO

Figura 1: Degradação anaeróbica simplificada do ácido ascórbico em Furfural 131

Figura 2: Curva Padrão de Furfural..... 136

Figura 3: Concentração de ácido ascórbico (mg/100 mL) e Furfural(ug/L) durante estocagem do suco de laranja Valência a temperatura ambiente..... 138

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I: DETERMINAÇÃO DE LIMONIN EM SUCO DE LARANJA PASTEURIZADO

Tabela 1: Concentração de limonoato Anel-A lactona e limonin 17- β -D- glicopiranosídeo de Laranja Navel durante seu crescimento e maturação.....	11
Tabela 2: Concentração de limonin em frutas cítricas.....	12
Tabela 3: Estudo da Recuperação do limonin no processo de extração da amostra	25
Tabela 4: Concentração (mg/L) de limonin encontrada para as diferentes variedades nos diferentes estágios de maturação durante a primeira safra estudada.	25
Tabela 5: Concentração (mg/L) de limonin encontrada para as diferentes variedades nos diferentes estágios de maturação durante a segunda safra estudada.....	26
Tabela 6: Concentração de limonin (mg/L) encontrado para todas as variedades nos diferentes estágios de maturação e diferentes safras.....	26
Tabela 7: Intensidade de amargor encontrado para todas as variedades nos diferentes estágios de maturação e diferentes safras pela equipe sensorial descritiva.....	27

CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE SENSORIAL DO SUCO DE LARANJA(*Citrus sinensis* L. Osbeck) DE DIFERENTES VARIEDADES ATRAVÉS DE ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA

Tabela 1: Média da intensidade de cada atributo de aroma e sabor para as variedades estudadas nas diferentes épocas de maturação e colheita.....	54
Tabela 2: Média da intensidade de cada atributo de Textura e Aparência para as variedades estudadas nas diferentes épocas de maturação e colheita.....	60
Tabela 3: Valores médios de nota de aceitação dos sucos de laranja em diferentes períodos de vida de prateleira.....	63

CAPÍTULO III: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ACEITAÇÃO SENSORIAL DO SUCO DE LARANJA(*Citrus sinensis* L. OSBECK) PASTEURIZADO OBTIDO DE DIFERENTES VARIEDADES CÍTRICAS.

Tabela 1. Características químicas e físicas do suco de laranja.....	82
Tabela 2. Valores* de Sólidos Solúveis, Acidez e Relação Sólidos Solúveis e Acidez (<i>Ratio</i>) para as amostras de suco obtido das diferentes variedades de laranja.....	93
Tabela 3. Valores médios (*) de Sólidos Solúveis da Variedade Natal.....	99
Tabela 4. Valores médios (*) de Sólidos Solúveis da Variedade Pêra.....	99
Tabela 5: Valores médios (*) de Sólidos Solúveis da variedade Valência.....	99
Tabela 6: Valores médios (*) de Luminosidade (L_{Hunter}) dos sucos da Variedade Natal	103
Tabela 7: Valores médios (*) de intensidade de vermelho (a_{Hunter}) dos sucos da Variedade Natal	103
Tabela 8: Valores médios (*) de intensidade de amarelo (b_{Hunter}) da Variedade Natal	103
Tabela 9: Valores médios (*) de Luminosidade (L_{Hunter}) da Variedade Pêra	104
Tabela 10: Valores médios (*) de intensidade de vermelho (a_{Hunter}) da Variedade Pêra ..	104
Tabela 11: Valores médios (*) de intensidade de amarelo (b_{Hunter}) da Variedade Pêra	104
Tabela 12: Valores médios (*) de Luminosidade (L_{Hunter}) da Variedade Valência	105
Tabela 13: Valores médios (*) de intensidade de vermelho (a_{Hunter}) da Variedade Valência	105
Tabela 14: Valores médios (*) de intensidade de amarelo (b_{Hunter}) da Variedade Valência	105
Tabela 15: Valores médios de notas de aceitação das amostras de suco de laranja em diferentes períodos de vida de prateleira.....	107

CAPÍTULO IV: DETERMINAÇÃO DE FURFURAL EM SUCO DE LARANJA PASTEURIZADO

Tabela 1: Estudo da Recuperação do Furfural no processo de extração da amostra por destilação.....131

Tabela 2: Concentração de Furfural encontrada no suco de laranja das diferentes amostras. Valores expressos em ug/L..... 138

CAPÍTULO I

DETERMINAÇÃO DE LIMONIN EM SUCO DE LARANJA PASTEURIZADO

“O destino não é uma questão de chance, é uma questão de escolha. Não é uma coisa para ser esperada, e sim para ser realizada.”

Willian Jennings Bryan

1. RESUMO

Um dos fatores mais importantes no sabor do suco das frutas cítricas é ausência da percepção amarga, sendo considerada bastante negativa e depreciadora da qualidade sensorial do suco.

O objetivo deste trabalho foi verificar o conteúdo de limonin, substância química que causa amargor em suco de cítricos e relacionar a influência de diferentes variedades de laranja e épocas de colheita no conteúdo de limonin no suco de laranja pasteurizado.

Para processamento do suco foram utilizadas três variedades de laranja (*Citrus sinensis* Osbeck), Pêra, Valência e Natal. Essas variedades são as mais produzidas no Estado de São Paulo (Brasil) e também as que apresentam maior rendimento em suco. As amostras foram selecionadas em regiões específicas de uma plantação para colheita no início e fim da safra e em duas safras consecutivas. Após a colheita as amostras foram processadas para obtenção do suco pasteurizado, que foi acondicionado em embalagem cartonada (Tetra Pak) para determinação do conteúdo de limonin.

As amostras foram extraídas em funil de separação usando-se clorofórmio. Foi utilizada a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência para quantificação do conteúdo de Limonin, Cromatógrafo Shimadzu modelo CTO 10 A VP, pré-coluna e coluna Shim-pack de sílica impregnada com CLC-CN 3 μ m (150mm x 4,6 mm). A fase móvel utilizada foi isopropanol, hexano e metanol (48:44:8). A leitura foi feita a 210 nm.

Os resultados encontrados demonstraram que a metodologia usada é bastante reprodutiva e precisa, podendo ser considerado um método relativamente rápido para determinação do conteúdo de limonin em suco de laranja pasteurizado. Os valores de recuperação variaram de 85 a 102%.

Foi encontrada diferença significativa para os valores de limonin entre as variedades, sendo que a variedade de laranja Pêra apresentou maior concentração de limonin na

fruta colhida no início de safra (1.47 e 1.34 mg/L) em relação as variedades Valência (0.56 e 0.96 mg/L) e Natal (0.57 e 1.11 mg/L), na primeira e segunda safra respectivamente.

Os valores de limonin para as variedades Valência e Natal, variaram de maneira significativa de uma safra para outra, quando se analisou o suco de início da safra.

Todas as amostras de suco produzidas a partir das laranjas de fim de safra, independente da variedade, apresentaram valores inferiores a 0,7 mg/L de Limonin.

Os valores de Limonin encontrados são considerados baixos (inferiores a 2 mg/L) e não causariam a percepção do amargor pelo consumidor comum, entretanto a equipe sensorial de análise descritiva detectou uma maior intensidade de amargor nas amostras de laranja Pêra de início de safra.

2. ABSTRACT

One of the most important factors in the flavor of citrus fruit juices is the absence of a bitter perception, a factor considered to be negative and depreciative as far as the sensory quality of the juice is concerned.

The objective of this work was to verify the content of limonin, a chemical substance that causes a bitter taste in citrus juice, and relate the influence of different varieties of orange and times of harvest to the content of limonin in the pasteurized orange juice.

For the juice processing, three varieties of orange were used (*Citrus sinensis* L. Osbeck), Pera, Valencia and Natal. These varieties are produced in the State of São Paulo (Brazil) and are those that present the greatest yields of juice. The samples were selected in specific regions of the plantation for harvest at the beginning and end of the harvest in two consecutive harvests. After harvesting, the samples were processed to obtain the pasteurized juice, which was conditioned in Tetra Pak cartons to determine the content of limonin.

The samples were extracted in a separating funnel using chloroform. High Performance Liquid Chromatography was used to quantify the Limonin content with a column and pre column of silica (Shimadzu Chromatograph model CTO 10 VP) impregnated with 3 μ c CLC-CN(4,6x150mm). The mobile phase used was isopropanol, hexane and methanol (48:44:8). Readings were at 210 nm.

The results obtained demonstrated that the methodology used was sufficiently reproducible and precise, being considered a relatively fast method for the determination of the limonin content in pasteurized orange juice. Recuperation varied from 85 to 102%.

A significant difference in the values for limonin was found between the varieties. The Pera variety of orange presented the greatest concentrations of limonin in the fruits harvested at the beginning of the harvest (1.47 and 1.34 mg/L) as compared to the

varieties Valencia (0.56 and 0.96 mg/L) and Natal (0.57 and 1.11 mg/L), in the first and second harvests respectively.

The values for limonin in the varieties Valencia and Natal varied significantly from one harvest to another when the juice at the beginning of the harvest was analyzed.

All the orange juice samples from the end of the harvest, independent of variety, presented values for limonin below 0.7 mg/L.

The values found for limonin were considered to be low (lower the 2 mg/L) and would not cause the perception of bitter taste to the common consumer. However the sensory panel for the descriptive analysis detected a greater intensity of bitter taste in the samples of Pera orange at the beginning of the harvest.

3. INTRODUÇÃO

3.1. ESTRUTURA E BIOSÍNTESE

Os limonóides constituem uma classe de derivados triterpênicos, usualmente encontrados na família da *Rutaceae*. É especialmente problemático por desenvolver amargor em sucos de algumas variedades de *citrus sinensis* (laranja lima da pérsia) e de grapefruit. Em países da Europa e nos Estados Unidos é bastante frequente esse problema em laranjas da variedade Navel.

O limonin, principal limonóide amargo encontrado em suco de laranja, é um derivado triterpênico oxigenado que contém em sua molécula dois anéis lactona, um grupo epóxido, um anel furano, um éter cíclico e um grupo cetona. (Segui *et al.*, 1992b)

O sabor amargo que se desenvolve no suco de laranja é um sério problema para as indústrias cítricas. Este sabor amargo que aparece algumas horas depois da extração ou após o tratamento térmico se deve a presença de um limonóide denominado limonin. Laranjas com relação Sólidos solúveis/Acidez titulável (Ratio) baixo apresentam maior probabilidade de desenvolver amargor após a extração, principalmente as laranjas no início da maturação, com casca verde.

Na Califórnia, sucos enlatados de laranja Navel, de início de safra, apresentaram desenvolvimento de amargor aproximadamente após quatro horas de processamento, quando armazenado a temperatura ambiente. O problema não foi observado com frutas colhidas maduras (Albach *et al.*, 1981).

A diferença em relação a outros compostos amargos é que o limonin, em sua forma amarga, não está presente na fruta. O precursor do Limonin que é denominado ácido limonóico monolactona A, encontra-se nas células do albedo e nas sementes das laranjas. Este ácido é estável no pH fisiológico dos tecidos intactos, entretanto quando ocorre a extração do suco e os

tecidos vegetais são rompidos, o suco da própria fruta acidifica o meio onde se encontra este precursor e como consequência ocorre a lactonização do anel do ácido limonóico, formando-se o limonin, que proporciona intenso sabor amargo. (Segui *et al.*, 1992a)

Pesquisadores buscaram identificar as causas e possíveis fatores que influenciariam a formação do precursor do limonin (Maier *et al.*, 1977; Albach *et al.*, 1981; Rouseff *et al.*, 1980). Muitos estudos se concentraram no entendimento das causas de origem química, bioquímica e enzimáticas que favoreceriam a formação do precursor e do próprio limonin (Carter *et al.*, 1975; Chandler *et al.*, 1976; Guadagni *et al.*, 1973, 1976; Hasegawa *et al.*, 1974).

Fatores de pré-colheita tais como espécies e cultivo, origem, fertilização, irrigação e tempo de colheita, tem um importante efeito no conteúdo de limonóides da fruta. Durante o período pós-colheita, o metabolismo de limonóides gradualmente reduz o conteúdo do componente ácido limonóico anel A lactona (precursor não amargo do limonin) nos tecidos da fruta. Sucos de laranja Navel, Shamout, Grapefruit, Murcot e Nat Sudaidi de frutas de início de estação contém altos níveis de limonin (Maier *et al.*, 1977).

Os conteúdos de limonin em suco processado de laranja Hamlim e Marrs foram estudados por Albach *et al.* (1981). Os autores levaram em consideração o estado de maturação da fruta e a localização. A variedade Marrs trata-se de uma mutação da variedade Washington Navel, que frequentemente apresenta ao alto teor de limonin no suco processado. As amostras foram colhidas em 5 localizações no sul do Texas em intervalos de duas semanas durante a safra de setembro de 1972 a janeiro de 1973. O suco foi processado em uma planta industrial e avaliado quanto ao amargor devido ao limonin formado à partir do precursor, sem sabor, anel limonoato A lactona. O conteúdo do limonin foi analisado utilizando-se cromatografia em camada delgada (*thin layer*). Os resultados mostraram que em novembro, meio da safra, o suco de laranja de cinco locais continham menos limonin do que o “threshold” nominal para sabor amargo de 6.0 mg/L. A maior concentração de limonin foi encontrada no início da safra em setembro (6.2 mg/L) e os menores valores foram encontrados em janeiro (1.8 mg/L). As duas cultivares não diferiram significativamente quanto ao teor de limonin. O local de plantio foi influenciado principalmente no início da safra e em alguns casos, no final da safra. Foram

encontradas correlações lineares entre o teor de limonin e o grau de amadurecimento, mais do que entre o teor de sólidos solúveis, acidez titulável ou relação entre sólido solúveis/acidez. O suco da variedade Hamlim apresentou alto conteúdo de limonin (12.2 mg/L e 10.3 mg/L, em duas regiões distintas) no início da safra, para “ratio” de 11.5 e 8.5 respectivamente. Para os frutos da variedade Marrs também foi encontrado alto teor de limonin (8.1 mg/L) para um valor de “ratio” igual a 13.8.

Muitos fatores interferem no conteúdo de limonin do suco, tais como, conteúdo do precursor nos tecidos, espessura do albedo, força ou resistência dos tecido a extração, tamanho dos fragmentos, tempo de contato entre o suco e a polpa, pressão da extratora sobre o fruto (Bettini, 1990; Segui *et al.*, 1992b).

A origem é um importante fator para determinar o tempo requerido para a fruta alcançar a maturidade com baixos níveis de limonin. A quantidade de limonin incorporada ao suco é influenciada pelas variáveis de processamento do suco. Fatores como a maceração de albedo, vasos vasculares e membranas, o tempo de contato entre o bagaço e o suco e a quantidade de polpa incorporada ao produto final, são fatores que influenciam no conteúdo final de limonin no suco. A distribuição desigual do composto ácido limonóico anel A lactônico nas várias partes da fruta, é grandemente responsável pelos efeitos variáveis do processamento (Fong *et al.*, 1992; Hasegawa *et al.*, 1991).

As sementes das frutas cítricas possuem alto teor de limonóides (Maier *et al.*, 1969; Maier *et al.*, 1977), onde a maioria destes foram isolados. Hasegawa *et al.* (1989) identificaram a presença de glicosídeos limonóides, e foram os primeiros a isolar estes compostos a partir de sementes de grapefruit. Ozaki *et al.* (1991a, 1991b) encontraram teores de 0.87% sobre o peso seco de limonin em sementes de laranja Valência, teores esses considerados elevados.

Fong *et al.* (1993), estudaram o teor de limonóides e seus glicosídeos em sementes de laranja Valência durante o crescimento e maturação do fruto. Procurou-se encontrar uma correlação entre o número de sementes e o acúmulo de limonóides e seus glicosídeos nos tecidos vegetais das frutas. Foram coletadas amostras de laranja Valência de cinco árvores localizadas na Universidade da Califórnia, referentes a safra de 1990 (julho a dezembro). Os

limonóides estudados foram limonin, nomilin, obacunona, diacetilnomilim, ácido nomilínico e seus respectivos glicosídeos. Os resultados mostraram haver um alto conteúdo de agliconas limonóides e glicosídeos nas sementes dos citros e isso pode estar relacionado a uma conversão de monolactonas para dilactonas pela ação limonóide D – lactona hidrolase durante o crescimento. Os limonóides com fechamento do anel D não são capazes de formar glicosídeos derivados. Esta lactonização intermitente ocorre nas sementes ao mesmo tempo em que ocorre a glicosidação das monolactonas durante os estágios iniciais do crescimento do fruto e maturação. De fato, durante a maturação, duas enzimas, limonin D-anel lactona hidrolase e UDP-D – glicose transferase estão competindo pelas novas moléculas monolactonas sintetizadas. Portanto, sementes maduras acumulam tanto limonóides agliconas como glicosídeos.

Os mesmos autores encontraram nos tecidos dos frutos dois tipos de enzimas diretamente envolvidas na biossíntese e metabolismo dos limonóides. Os autores concluíram que nenhuma lactonização de monolactonas parece ocorrer nos tecidos das frutas e estas moléculas permanecem biologicamente ativas durante o crescimento do fruto, sendo convertidas em glicosídeos derivados durante os estágios finais de crescimento e durante a maturação do fruto, isto explica porque os tecidos vegetais acumulariam elevadas concentrações de glicosídeos ao invés de agliconas. A razão de glicosídeos e agliconas em suco de laranja comercial é de aproximadamente 150:1 (Fong *et al.*, 1989), entretanto em sementes a razão é aproximadamente 1:2 (Hasegawa *et al.*, 1989). Os autores sugerem que não existe uma correlação entre o acúmulo de limonóides nas sementes e a biossíntese destes compostos amargos nos tecidos das frutas.

Limonin D-anel lactona hidrolase é a única enzima limonóica isolada de citros já caracterizada. Esta enzima é extremamente resistente ao aquecimento (Maier *et al.*, 1969). Pesquisas mostraram ser necessário 15 minutos de aquecimento a 100°C para inativá-la completamente. Atividades de outras enzimas como limonoato dehidrogenase (Hasegawa *et al.*, 1974), epoxidase e deoxilimonoato-anel lactona hidrolase tem sido demonstrado em citros, mas ainda não foram isoladas e purificadas.

Bettini (1990) estudou a influência da relação sólidos solúveis/acidez (“ratio”) no teor de limonin em suco de laranja Pêra de duas safras consecutivas (88/89 e 89/90). Os resultados mostraram haver uma tendência em se encontrar índices maiores de limonin (3.03-3.12 mg/L) em amostras com “ratio” entre 9 e 12. Suco de laranja com “ratio” entre 14 e 18 apresentaram teores variados de limonin sendo encontrados valores de 3.84 e 0.50 mg/L respectivamente. De uma safra para outra houve uma diminuição dos valores de limonin para a maioria dos valores de “ratio” estudados.

Fong *et al.* (1992) estudaram a quantidade de limonoato anel – A lactona, nomilin, diacetonomilin e Limonin 17 - β - D – glicopiranosídeo (derivado glicosídico do limonin, substância não amarga) em laranja Valência durante seu crescimento e maturação, durante a safra de Junho de 1988 a Agosto de 1989. A quantidade total de limonoato anel – A lactona nos tecidos da fruta aumentaram intensamente de junho a setembro (0 - 120 mg/fruta) e então diminuiu gradualmente até o fim da safra. O conteúdo de Limonin 17 - β - D – Glicopiranosídeo aumentou de outubro/88 até abril/89 permanecendo estável até agosto. Os autores sugeriram não haver direta correlação entre a biossíntese de limonóides e seus glicosídeos na pele e na polpa da fruta.

A quantidade de limonato monolactona Anel A e limonin 17 - β - D – glicopiranosídeo em laranja Navel foi estudado durante o crescimento e maturação. Hasegawa *et al.* (1991) encontraram que o teor de ácido limonóico monolactona A (gramas/fruta) aumentou do início (junho a agosto) para o meio da safra e começou a diminuir até o final da safra. O teor de limonin 17 - β - D – glicopiranosídeo começou a ser encontrado no albedo da laranja a partir do meio da safra (setembro) e na pele, um mês depois. O teor na pele aumentou gradativamente de setembro a novembro. A diminuição do ácido limonóico e o aumento do limonin glicopiranosídeo ocorrem simultaneamente nos últimos estágios de crescimento do fruto e maturação, sugerindo que o limonin glicopiranosídeo é um metabólito do ácido limonóico anel a lactona. A Tabela 1 apresenta a evolução do precursor do Limonin e do próprio Limonin durante a safra de 1988 a 1989 para laranja Navel.

Nas folhas cítricas e tecidos vegetais da fruta, ocorre naturalmente a presença do sal do ácido limonóico anel A lactona, que possui em sua estrutura dois anéis: o anel A que é

fechado e o anel D que é aberto. Este composto, sem sabor, é estável somente na forma de sal. Em valores de pH baixos e mais rapidamente na presença da enzima citrus limonoato D-anel lactona hidrolase, o anel D se fecha e se forma então a substância amarga limonin. A conversão gradual do ácido limonóico anel A lactona para limonin ocorre sempre que os tecidos da fruta são rompidos, através do maltrato, estrago por congelamento ou durante o processo de extração do suco. Limonin e outros limonóides ocorrem em quantidades variáveis em sementes cítricas (MAIER *et al.*, 1969).

Noomjorm & Kasemsuksakul (1992) estudaram o efeito da maturação e processamento no teor de limonin de suco de tangerina. Altos conteúdos de limonin foram observados em tangerinas de início de maturação e conteúdo de naringin decresceu com o andamento da maturação. Baixas temperaturas de estocagem do suco foram eficientes para diminuir a velocidade de formação do limonin, no caso de suco não pasteurizado.

Tabela 1: Concentração de limonoato anel-A lactona e limonin 17 - β - D – glicopiranosídeo de laranja Navel durante seu crescimento e maturação ^a.

	1988						1989			
	Fev.	Jul	Ago	Out	Nov*	Nov**	Jan	Fev	Mar	Abr
limonoato anel – A lactona										
Pele	nd	nd	nd	244	211	158	110	103	88	44
Polpa	nd	nd	nd	208	127	71	47	39	21	14
Total	362 ^b	478 ^b	375 ^b	219	150	96	66	58	41	23
limonin 17 - β - D - glicopiranosídeo										
Pele	nd	nd	nd	0	66	202	298	258	286	362
Polpa	nd	nd	nd	126	206	296	328	312	304	325
Total	0 ^b	0 ^b	0 ^b	90	168	269	319	295	296	336

^a Variação da concentração (mg/L) de cinco árvores ^b Fruta Inteira

*2/Nov ** 30/11

HASEGAWA *et al.*, 1991

Tabela 2: Concentração de limonin em frutas cítricas.

Produto	Local do fruto	mg/L de limonin	Referência
Laranja Navel	Suco concentrado	14,6 - 18	Shaw,1984
Laranja Navel	Suco fresco	8,8 – 11,4	Shaw,1984
Grapefruit	Suco reconstituído	3,8 – 10	Shaw,1984
Grapefruit	Suco integral	5,72- 13,69	Widmer,1991
Grapefruit	Suco integral	6,67-18,12	Bettini,1990
Laranja Pêra(Safra 88/89)	Suco("ratio" 12)	0,84-2,06	Bettini,1990
Laranja Pêra(Safra 88/89)	Suco("ratio" 13)	0,76-4,38	Bettini,1990
Laranja Pêra(Safra 88/89)	Suco ("ratio" 15)	0,53-2,28	Bettini,1990
Laranja Valência	Suco integral	1,73 – 6,79	Widmer,1991
Laranja Valência	Pele	0 - 313	Fong,1992
Laranja Valência	Pele	5,6-31,8	Widmer,1991
Laranja Valência	Semente	52-140	Fong,1993
Laranja Valência	Polpa	0 - 127	Fong,1992
Laranja Valência (Início de safra)	Suco integral	4,6	Maier,1970
Laranja Valência (Meio de safra)	Suco integral	2,3	Maier,1970
Laranja Hamlim	Suco	1,7	Widmer,1991
Limão	suco	4,2-14,2	Maier,1970

3.1.1. Aspectos Sensoriais

A concentração de limonin é um importante parâmetro na qualidade sensorial do suco de laranja, influenciando diretamente a aceitação do consumidor.

A aceitação de um suco de laranja está diretamente relacionada a sua característica aromática, incluindo frescor e palatabilidade em relação ao equilíbrio dos gostos básicos doce e ácido. A sensação de amargor desenvolvida no suco, em níveis de limonin acima de 2-3 mg/L, pode ser decisiva na rejeição de um suco de laranja e pode comprometer sua aceitabilidade (Bettini, 1990).

Em suco de laranja não proveniente de concentrado (“Not From Concentrate – NFC”), onde a matéria prima é a fruta fresca, esse problema é mais frequente principalmente na entressafra da laranja, quando é necessário utilizar laranjas disponíveis em estágio de maturação não tão recomendados. A indústria de suco concentrado tem por precaução fazer estoques do suco de laranja de variedades com relação de sólidos solúveis/acidez titulável ideal e utilizar estes estoques na entressafra. Para o processamento de suco de laranja reconstituído a partir do concentrado, este problema também tem sido facilmente solucionado usando estoques de suco concentrado de “ratio” bom.

Fellers & Hill (1987) verificaram a influência do conteúdo de limonin no sabor de suco de laranja concentrado congelado e suco de laranja reconstituído. Os autores pesquisaram o teor de limonin em sucos processados de janeiro de 1984 a julho de 1985. Amostras de suco de laranja concentrado e congelado da safra de 82/83 também foram analisadas. Os resultados mostraram diferença significativa no conteúdo de limonin entre os anos e entre os meses (da mesma safra), mas não houve variação de uma planta para outra (mesma variedade) na mesma época. O sabor do suco variou de um mês para outro e por planta, mas não de um ano para outro. Foi detectada correlação inversa significativa entre o conteúdo de limonin e o sabor do suco quando analisados por 15 provadores treinados.

Rouseff *et al.* (1990) utilizando técnica de tempo-intensidade, verificaram o comportamento de naringina e limonin. Estes compostos foram apresentados para um grupo de

provadores em soluções aquosas. O “threshold” individual para sabor amargo foi definido usando-se soluções de cafeína. O máximo sabor amargo foi percebido em poucos segundos, seguido por um gradual declínio da intensidade de amargor. O tempo de amargor foi maior para as soluções de limonin do que para naringina. Provadores com maior “threshold”, ou seja, menor sensibilidade ao sabor amargo, exibiram curva de resposta maior no máximo nível de intensidade de amargor e menor intensidade global e menor tempo de percepção de amargor. Os provadores com menor “threshold”, ou seja, maior sensibilidade ao sabor amargo, em geral produziram respostas com maior intensidade global de amargor e maior persistência de sabor amargo.

Maier *et al.* (1977) estudaram os níveis de sensibilidade de amargor proveniente de limonin em laranja Navel. Os autores concluíram que níveis de limonin abaixo de 6 mg/L geralmente não eram percebidos, entretanto a sensação de amargor para níveis superiores a 6 mg/L variavam com a doçura, acidez e níveis de óleo do suco. A influência do ratio na sensibilidade de amargor foi estudada. A um pH constante e aumentando-se o “ratio” de 10 para 16, a sensibilidade passou de 6.2 para 8.5 mg/L. Provadores que avaliaram sucos com diferentes pH e ratio, e um teor de limonin de 4 mg/L, mostraram preferência para sucos com características de pH e ratio onde a sensibilidade de amargor foi mínima.

Em seus estudos sobre sensibilidade de detecção de sabor, Guadagni *et al.* (1973), utilizaram painelistas treinados e previamente selecionados por sua sensibilidade e consistência em perceber sabor amargo. O indivíduo mais sensível detectava sabor amargo em níveis de 0.5 mg/L de limonin, enquanto o menos sensível percebia somente em níveis de 32 mg/L. Para concentrações de 2 mg/L, trinta e dois por cento dos painelistas eram capazes de detectar amargor e sessenta e dois por cento dos provadores detectaram sabor amargo em concentrações de 4 mg/L. Para laranja Navel, níveis de 6 mg/L de limonin foram percebidos pelo grupo. Os autores correlacionaram uma maior qualidade do sabor em níveis específicos de limonin.

Tem sido relatado, que a supressão no amargor de limonin ocorre quando o constituinte cítrico neo-diosmin (NEO), uma flavona sem sabor, análoga ao flavonóide amargo neo-hesperidina, está presente em soluções ou sucos contendo limonin. Baixos níveis de NEO foram efetivos em aumentar a sensibilidade de limonin em suco de laranja, reduzindo o

amargor de baixos níveis de limonin e mesmo de níveis muito altos. NEO é também um efetivo supressor de amargor de naringin e seria especialmente útil em suco de grapefruit amargo, o qual contem limonin e naringin. Baseado nestes resultados, um processo para redução de amargor de suco cítrico foi proposto o qual inclui a adição de 50 a 150 mg/L de neodiosmim (Guadagni *et al.*, 1977).

3.1.2. Identificação e Quantificação de Limonóides

Pelo fato do sabor amargo desenvolvido em presença de limonin ocorrer em determinadas concentrações e muitas vezes após horas ou dias após o processamento, um método rápido e eficiente para determinação facilitaria o controle de qualidade na indústria cítrica.

Vários métodos foram testados para identificação e quantificação dos limonóides, em especial limonin, naringin e seus precursores. Cromatografia em Camada Delgada (Maier & Grant, 1970; Albach *et al.*, 1981; Pifferi *et al.*, 1993), Cromatografia Gasosa (CG) (Lanças & Galhiane, 1990), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (Fisher, 1978; Rouseff & Fisher, 1980; Shaw & Wilson, 1984; Bettini, 1990; Hasegawa *et al.*, 1991; Segui *et al.*, 1992; Fong *et al.*, 1992; Fong *et al.*, 1993; Pifferi *et al.*, 1993), Método imuno-enzimático (IEA) (Bettini, 1990; Widmer & Rouseff, 1991)

Maier & Grant (1970), em seus estudos com limonin utilizaram a cromatografia de camada delgada e extração dupla com clorofórmio e posterior evaporação. O resíduo foi dissolvido em acetonitrila e então aplicado em camada de sílica gel, devidamente preparado, para determinação do limonin. O método apresentou sensibilidade para valores de 2.2 a 850 mg/L, podendo ser usado para determinação em suco e nos tecidos da fruta. A utilização de clorofórmio como reagente para extração total do limonin do suco foi considerada eficiente, sendo que, após duas extrações, não foi encontrado resíduo de limonin na alíquota de suco ou no tecido estudado. Os autores encontraram valores de 4.6 e 2.3 mg/L em suco de laranja Valência de início e meio de safra respectivamente.

Muitos métodos vem sendo testados ao longo dos anos, tentando ser eficientes, reprodutivos e rápidos na determinação do conteúdo de limonin. Rouseff & Fisher (1980) utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, fase normal, encontraram boa reprodutibilidade e repetibilidade na determinação de limonin em suco de laranja. O método apresentou excelente recuperação, sendo encontrados valores de 60 ppb. Entretanto, o método possui uma etapa preliminar de três extrações com clorofórmio, o que exigiu mais tempo de análise.

O conteúdo de limonin foi estudado por Shaw & Wilson (1984) em laranja e grapefruit usando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC). Foi testada a injeção direta em coluna microbore C-18, e coluna analítica C-8, com e sem etapa preliminar de separação em cartucho Sep-Pak. Para a determinação em laranja o uso da etapa de separação inicial foi importante para eliminação de substâncias interferentes, no caso da injeção direta de suco no cromatógrafo. Os autores concluíram que o uso do Sep-Pak é um método rápido e simples para preservar a pré-coluna e coluna cromatográfica dos resíduos do suco, quando injetados diretamente. O uso da Cromatografia Líquida de Fase Reversa permite uma rápida quantificação de limonin em suco de laranja para teores acima de 1 mg/L em coluna microbore de 2.1 mm de diâmetro interno e 2 mg/L para coluna de diâmetro de 4.6 em coluna analítica C8 ou C18. A coluna analítica requer uma injeção quatro vezes maior do que a requerida pela coluna Microbore. Para grapefruit, o limite mínimo de detecção 5 mg/L foi encontrado para análise de rotina..

WIDMER (1991a) utilizou extração em fase sólida em Sep-Pak C-18 e CLAE, com coluna Ciano (CN). A fase móvel utilizada foi Acetonitrila/Água (38:62). Os resultados mostraram que a Fase Estacionária CN apresentou uma boa seletividade, sendo, entretanto susceptível a contaminação por alguns constituintes presentes no suco. O uso prévio de extração em fase sólida C18 auxilia na eliminação desses interferentes. O método apresentou excelente recuperação e o extrato de limonin, obtido após ressuspensão, em metanol, foram estáveis por 30 dias quando estocados a -4°C. Os resultados confirmam a eficiência da Cromatografia Líquida de Fase Normal já encontrados por Fisher (1978) e Bettini (1990).

Colunas CN (Ciano) tem sido utilizadas para cromatografia líquida fase normal por causa de sua intermediária polaridade (Kimball, 1991).

Bettini(1990) estudou diferentes métodos para determinação de limonin e nomilim em suco de laranja e suco de grapefruit concentrado. Foi avaliada a eficiência das análises utilizando-se o método imunoenzimático (EIA) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (Fase Normal e Fase Reversa). As amostras foram avaliadas por provadores treinados que usando uma escala de 0-10 pontos, avaliaram a intensidade de sabor amargo. Para análise quantitativa de limonóides, o autor encontrou melhores resultados utilizando CLAE Fase Normal. A etapa inicial de extração com clorofórmio foi considerada mais dispendiosa no que se refere ao tempo de execução do método. Foi utilizada coluna de sílica quimicamente ligada com grupo ciano, que foi considerada extremamente eficiente e reprodutiva. A fase móvel isopropanol/hexano/metanol (48:44:8) foi a que separou melhor os picos em um tempo de 12-13 min. Os resultados mostraram uma correlação significativa ao nível de 5% entre a intensidade de sabor amargo detectado pelos provadores e a concentração de limonin, sendo que para valores superiores a 1.6 mg/L de limonin, os provadores já sentiram moderado sabor amargo no suco de laranja.

SEGUI *et al.* (1992a) utilizaram para determinar o teor de limonin em suco de laranja, CLAE com Coluna de Fase Reversa Hypersyl ODS e com pré-coluna também de ODS. A Fase Móvel utilizada foi Acetonitrila/Água (45/55). Para preparação da amostra foi feita extração em cartucho Sep-Pak previamente ativado e o Limonin eluído com uma solução de Acetonitrila /Água (50/50). Os autores encontraram uma recuperação de 99% e 95% para concentrações de 48.4 e 39.4 mg/L, respectivamente. O método mostrou-se sensível para concentrações de 0.1 mg/L de limonin, sendo essa sensibilidade similar à da técnica de imunoensaio (Jourdan *et al.*, 1984) e superiores a técnica de camada delgada (Maier & Grant, 1970) .

Em seus estudos de determinação de limonin em amostras industriais de suco de laranja, Segui *et al.*(1992b), encontraram uma forma de eliminar a interferência dos picos da sinensetina e coumarina, na determinação por CLAE. Utilizaram uma Fase Reversa, pré-coluna Sep-Pak C18, fase móvel acetonitrila/água (42:58) e coluna cromatográfica Hypersyl ODS

5 μ m (200x4mm). O tempo total de análise foi de 7 minutos. Os sucos analisados apresentaram uma concentração de limonin média de 11- 15 mg/L. Foi comparado o teor de limonin no suco, na polpa e no soro do suco. Os autores observaram que, do total de limonin, em sucos com teores de polpa maior que 5%, o conteúdo de limonin encontrado na polpa representava 10-14% do valor total de limonin no suco. Entretanto, suco com valores de polpa inferiores a 5%, apresentaram o teor de limonin no soro praticamente correspondendo ao valor total de limonin do suco.

Fisher (1978) utilizou Cromatografia Líquida de Alta Eficiência de Fase Normal para quantificar o teor de limonin em suco fresco e reconstituído de laranja e grapefruit. Foi escolhida coluna CN (ciano propilsilano quimicamente ligada em suporte de sílica, 10 μ m) Bondapak. A fase móvel selecionada como melhor foi metanol/água 35:65. A limpeza e manutenção da coluna foi feita usando-se acetonitrila ou clorofórmio. Os resultados demonstraram que o método foi bastante reprodutivo e preciso, podendo ser detectado nível de 1 mg/L no suco.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1.MATERIAL

As variedades selecionadas para o experimento foram: Pêra, Valência e Natal, obtidas durante as safras de 1998/99 (Primeira safra) e 1999/2000 (Segunda safra) das plantações da indústria, situada na cidade de Santa Cruz do rio Pardo (SP). As frutas foram selecionadas de zonas e talhões específicos para que se procedesse a colheita das frutas em todo período do estudo do mesmo local.

Estabeleceu-se que as frutas de uma mesma variedade deveriam ser colhidas sempre de uma mesma região, zona e talhão, pré-definidos antes do início do experimento para que se repetisse a colheita da mesma região durante a safra e nas duas safras estudadas. Esses critérios foram estabelecidos para evitar variabilidade devido ao tipo de enxertia, variações no solo, tempo de vida da árvore e outras fatores de variação devido ao local de plantio.

O trabalho experimental foi dividido em dois estudos:

4.1.1. Estudo da Variabilidade durante a safra: estudo da variação do conteúdo de limonin em laranja no início da maturação e no fim do período de maturação para as diferentes variedades. O parâmetro “ratio” (sólidos solúveis/acidez titulável) foi usado para definir a data da colheita e processamento.

4.1.2. Estudo da Variabilidade entre duas safras: Estudo da variação do conteúdo de limonin entre as safras. O ano safra na indústria cítrica inicia-se em maio/junho, portanto, por esse calendário, as amostras da variedade de Natal foram colhidas das safras de 98/99 e 99/2000 e as variedades Pêra e Valência foram colhidas das safras de 99/2000 e 2000/2001.

4.2. MÉTODOS

As amostras utilizadas de suco de laranja foram produzidas a partir de cada variedade de laranja a ser estudada. O suco foi extraído, despulpado, pasteurizado e envasado em embalagem cartonada (Figura 1 do Capítulo III desta tese). Após 4 dias de processamento as amostras de suco foram congeladas em câmara de congelamento a -20°C para posteriores análises. Para análise do limonin, as amostras foram previamente descongeladas até atingir a temperatura ambiente e procedeu-se a extração do limonin.

As análises foram conduzidas de acordo com Rouseff & Fisher (1980), como se segue:

4.2.1. Extração do Limonin

Aproximadamente 50 mL de suco foi centrifugado por 15 minutos a 3000 rpm para remover a polpa e o material suspenso. Foram então coletados 35 mL do sobrenadante e colocados em funil de separação, onde foram adicionadas 3 alíquotas de 10 mL de clorofórmio (Marckintoff) para extração do limonin. Após a separação, as camadas combinadas de clorofórmio foram evaporadas à secura sob nitrogênio a uma temperatura máxima de 35°C (Figura 1).

O resíduo seco foi então ressuspendido em 2,0 ml de fase móvel e filtrado em filtro Millipore 0,22 µm.

4.2.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Foi utilizado Cromatógrafo Shimadzu modelo CTO 10 A VP e bomba LC 10AD pré-coluna e coluna Shim-pack de sílica impregnada com CLC-CN 3µm (150mm x 4,6 mm), número de série 4155165, N=8600, adquirida da Shimadzu Co.

A temperatura da coluna foi de 38°C

Fluxo da Fase Móvel: 1ml/min.

Volume de injeção: 20µL

Detector UV: 210 nm.

A fase móvel utilizada foi isopropanol, hexano e metanol (48:44:8). Outra proporção destes mesmos solventes foi utilizada (60:30:10). Também foi estudada a substituição de isopropanol por n-propanol, entretanto não houve uma melhora significativa no cromatograma obtido.

O padrão utilizado foi limonin (Acido limonóico 3,19:16,17- dilactona), grau HPLC, marca Sigma (L 9647).

Foi preparada uma solução estoque de limonin, diluindo com acetronitrila (2mL) e completando o volume com etanol (grau HPLC) para preparo de uma solução estoque de 100mg/L. Foram preparadas diluições para concentrações de 1.0 mg/L; 2.5mg/L; 13.0 mg/L; 34mg/L; 45 mg/L. Dados de literatura confirmaram a ampla linearidade existente entre a concentração de limonin e altura dos picos, indicando que a área do pico, assim como, sua altura, podem ser utilizados para quantificação do limonin. (ROUSEFF,1980; BETTINI,1990).

4.2.3. Análise Sensorial

Foram feitas análises de intensidade de sabor amargo, com equipe treinada, conforme metodologia descrita no capítulo II, item 4.2 desta tese.

Os resultados foram avaliados utilizando Análise de Variância (ANOVA) e comparação entre as médias (Tukey) a nível de 5% de significância.

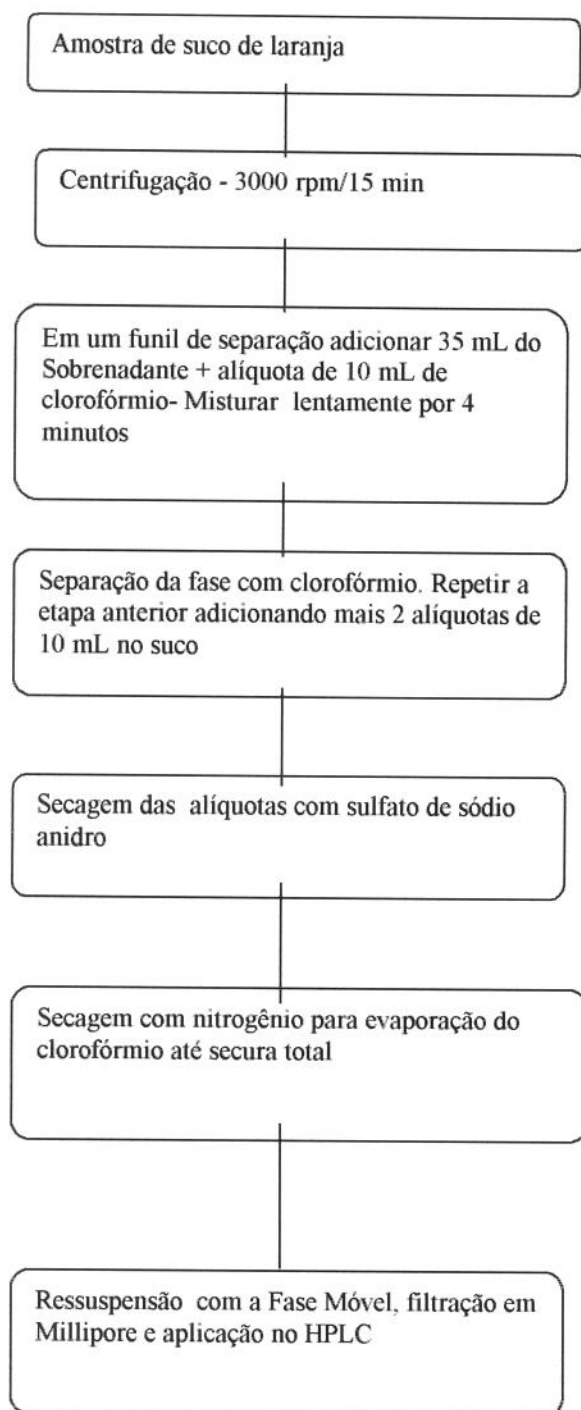


Figura1: Fluxograma de extração de limonin

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. PREPARAÇÃO DA AMOSTRA E CROMATOGRAFIA LÍQUIDA

As amostras foram extraídas em funil de separação usando-se clorofórmio. O estudo da recuperação e a identificação do pico de limonin foram feitos usando-se a adição de várias concentrações de padrão externo na amostra (Tabela 3) e procedendo-se a todas as etapas de extração conforme descrito anteriormente e também pelo tempo de retenção. O método apresentou uma variação da porcentagem de recuperação de 94.9 a 103.3%, compatíveis com valores encontrados por outros autores (Segui *et al.*, 1992a; Carter, 1985).

5.2 PADRÕES

Uma solução padrão de limonin contendo 100mg/L de limonin dissolvido em acetonitrila e diluído em etanol foi armazenada a -18°C por um período máximo de 6 meses (Shaw & Wilson, 1988). Amostras diluídas foram preparadas diariamente e usadas como solução padrão.

As determinações quantitativas das amostras foram feitas comparando-se a variação das áreas dos picos de triplicatas e áreas de padrões aplicados em triplicata no mesmo dia. Coeficientes de variação de até 10% foram consideradas toleráveis por outros autores (Shaw & Wilson, 1984; Horwitz, 1982).

A recuperação do método foi avaliada adicionando-se quantidades conhecidas de limonin nas amostras de suco de laranja antes de iniciar o processo de centrifugação.

O conteúdo de limonin apresentou uma resposta linear nas concentrações do estudo: 0.34 a 33.75 mg/L ($r^2=0,98$) (Figura 2).

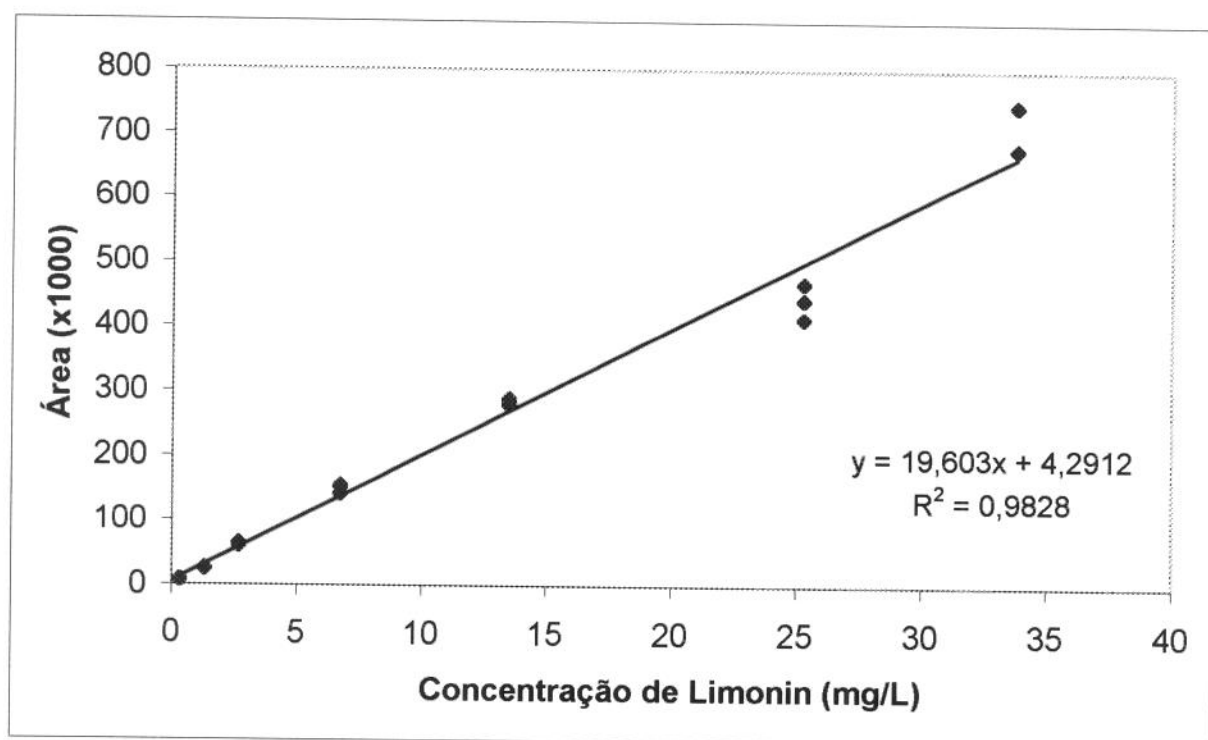


Figura 2: Curva de calibração do padrão de limonin ($r^2 = 0,98$)

Os valores de recuperação de limonin estão próximos aos encontrados por outros autores em seus estudos com limonin em suco de laranja (Roussef & Fisher, 1980; Carter *et al.*, 1985; Bettini, 1990; Segui *et al.*, 1992a).

A melhor eluição obtida foi com a fase móvel ternária isopropanol, hexano e metanol na proporção (48:44:8). Outra proporção destes mesmos solventes foi testada (60:30:10), mas não apresentou eluição e separação adequadas do limonin. Também foi testada a substituição de isopropanol por n-propanol, entretanto não houve uma melhora significativa no cromatograma obtido.

Tabela 3: Estudo da recuperação do limonin no processo de extração da amostra.

Limonin					
Amostra	Inicial(*)	Adicionada	Esperada	Encontrada	Recuperação(%)
1	0.65	1.12	1.77	1.52	85.87
2	0.65	1.12	1.77	1.60	90.04
3	0.65	1.12	1.77	1.48	83.61
4	0.86	2.70	3.56	3.43	96.34
5	0.86	2.70	3.56	3.51	98.50
6	0.86	2.70	3.56	3.47	97.47
7	3.84	2.70	6.54	6.60	100.91
8	3.84	2.70	6.54	6.54	100.00
9	3.84	2.70	6.54	6.52	99.60
10	3.84	4.50	8.34	8.54	102.00
11	3.84	4.50	8.34	8.29	99.00
12	3.84	4.50	8.34	8.42	101.00

(*) mg/L. Foram adicionadas concentrações de limonin conhecidas às amostras de suco de laranja com concentração de limonin determinadas.

Tabela 4: Concentração (mg/L) de limonin encontrada para as diferentes variedades nos diferentes estágios de maturação durante a primeira safra estudada.

	Pêra início	Pêra fim	Valência início	Valência fim	Natal início	Natal Fim	Variação (média)
Concentração (n=3)	1.47a	0.60b	0.57b	0.56b	0.55b	0.45b	0,31-1,53 (0,70)
d.p.	0.05	0.17	0.12	0.21	0.11	0.16	0.37

Médias seguidas da mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de significância de probabilidade

Pela Tabela 4 observa-se que na primeira safra, a variedade Pêra no início da maturação apresentou um teor significativamente maior de limonin em relação às demais

variedades. As demais variedades não apresentaram diferença significativa entre si ao nível de 5% na concentração de limonin.

Podemos observar, pelos resultados da tabela 5, que para a segunda safra estudada, a variedade Pêra de início de safra, apresentou conteúdo de limonin significativamente superior, não diferindo apenas da amostra Natal de início de safra ($p<0,05$). A variedade Natal apresentou uma significativa redução no conteúdo de limonin durante a segunda safra. Todas as variedades apresentaram valores maiores de limonin no início da safra.

TABELA 5: Concentração (mg/L) de limonin encontrada para as diferentes variedades nos diferentes estágios de maturação durante a segunda safra estudada.

	Pêra Início	Pêra Fim	Valência Início	Valência Fim	Natal Início	Natal Fim	Variação (média)
Média (n=3)	1.34 a	0.65bc	0.96b	0.56c	1.11a,b	0.25d	0.14-1.41 (0.82)
d.p.	0.07	0.11	0.14	0.09	0.12	0.12	0.38

Médias seguidas da mesma letra não apresentam diferença significativa ao nível de 5% de significância

Tabela 6: Concentração de limonin (mg/L) encontrada para todas as variedades nos diferentes estágios de maturação e diferentes safras.

Variedade	Primeira Safra		Segunda Safra	
	Início	Fim	Início	Fim
PÊRA	1.47 aA	0.60bA	1.34aA	0.65bA
VALÊNCIA	0.57b B	0.56bA	0.96aB	0.56bA
NATAL	0.55b B	0.45bA	1.11aAB	0.25dB

Médias com mesmas letras minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de significância

Os valores da Tabela 6 indicam que a variedade Pêra de início de safra, apresentou elevada concentração de limonin nas duas safras estudadas. As variedades Valência e Natal, de início de safra, apresentaram teor de limonin estatisticamente superiores na segunda safra. Pode-se observar também que durante a segunda safra, todas as variedades

apresentaram teores de limonin elevados no início da safra, entretanto esses teores diminuíram de maneira significativa no fim da safra. Esses resultados são similares aos encontrados por outros autores que verificaram a presença de uma maior concentração de limonin em suco de laranjas do início da safra (Albach *et al*,1981; Bettini,1990) ou maior conteúdo de seu precursor na fruta de início de safra (Hasegawa *et al*,1991). Fong *et al* (1992), em seus estudos com laranja Valência obtida de duas safras consecutivas encontraram um conteúdo maior de precursor do limonin (limonoato anel A lactona) em laranjas da variedade Valência no início da safra. Essas laranjas foram caracterizadas como laranjas de casca verde, em ambas as safras estudadas.

Tabela 7: Intensidade de amargor das variedades nos diferentes estágios de maturação e safras observado através do teste descritivo.

Variedade	Primeira Safra		Segunda Safra	
	Início	Fim	Início	Fim
PÊRA	1.69bc	1.26bcde	2.65a	1.68bc
VALÊNCIA	1.56bcd	1.14cde	0.92de	1.52bcd
NATAL	1.95 ab	1.43 bcde	0.80 e	0.90 de

Médias com mesmas letras não diferem entre si ao nível de 5% de significância

Os valores de intensidade de amargor encontrados pela equipe descritiva, no início da segunda safra, para a laranja Pêra, podem estar relacionados aos níveis de limonin obtidos. Os resultados coincidem com os valores encontrados por Guadagni *et al.* (1973), onde para teores de 2mg/L de limonin, 32% dos provadores treinados foram capazes de detectar sabor amargo.

6. CONCLUSÕES

O método utilizado para determinação de limonin é bastante rápido e reprodutivo, podendo ser utilizado como controle para o processo de extração do suco de laranja.

Houve diferença significativa para os valores de limonin entre as variedades, sendo que a variedade de laranja Pêra apresentou maior concentração de limonin na fruta colhida no início de safra.

Os valores de limonin para as variedades Valência e Natal, variaram de maneira significativa de uma safra para outra, quando analisamos o suco de início da safra.

Todas as amostras de suco produzidas a partir das laranjas de fim de safra, independente da variedade, apresentaram valores de limonin inferiores a 0.7 mg/L de suco.

Os valores de limonin encontrados, inferiores a 2 mg/L de suco, são considerados baixos e não causariam a percepção de amargor pelo consumidor comum, entretanto a equipe sensorial de análise descritiva detectou uma maior intensidade de amargor nas amostras de laranja Pêra de início de safra.

Para o suco obtido da variedade Pêra, foi possível relacionar a intensidade de amargor e os valores de limonin para o suco de laranja pasteurizado.

7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ALBACH, R. F; REDMAN, G. H.; LIME, B. J. Limonin content of juice from Marrs and Hamlim oranges (*Citrus sinensis*, L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29:313-315, 1981.
- BETTINI, M. F. M. Análise quantitativa de limonóides em sucos cítricos através de cromatografia líquida de alta eficiência (clae). Tese de Mestrado. Universidade de São Paulo, Instituto de Física e Química de São Carlos, 84p. 1990.
- CARTER, B. A; OLIVER, D. G.; JANG, L. A comparison of methods for determination the limonin content of processed California Navel orange juice. *Food Technology*, 39: 82-86, 1985.
- FELLERS, P. J.; HILL, E. C. Limonin content of commercial Florida processed orange juices and its effect on flavor. *Proceedings Florida State Horticultural Society*, 99:87-90. 1987.
- FELLERS, P. J. A review of limonin in grapefruit (*Citrus paradise*) juice, its relationship, and efforts to reduce it. *Journal of Science and Food Agricultural*, 49(4), 389-404. 1989.
- FISHER, J. F. An improved method for the quantitation of limonin in citrus juice by high pressure liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(2) 497-499, 1978.
- FONG, C. H.; HASEGAWA, S.; MIYAKE, M.; OZAKI, Y; COGGINS, C. W.; ATKIN, D. R. Limonoids and their glucosides en Valencia orange seeds during fruit growth and development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 112-115, 1993.
- FONG, C. H., HASEGAWA, S.; HERMAN, Z. Limonoids glicosideos in orange juice. *Journal of Food Science*, 54(6):1505-1504, 1989.

FONG, C. H.; HASEGAWA, S.; MIYAKE, M.; COGGINS Jr, C. W.; ATKIN, D. R.; MIYAKE, M. Contents of limonoids and limonin 17- β - D- glicopyranoside in fruits of Valencia orange during growth and maturation of fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 1178-1180, 1992.

GUADAGNI, D.G.; MAIER, V.P.; TURNBAUGH, J.G. Effects of some Citrus constituents on taste threshold for limonin and naringin bitterness. *Journal of Science and Food Agricultural*, 24: 1277-1288, 1973.

GUADAGNI, D. G.; HOROWITZ, R. M.; GENTILI, B.; MAIER, V. P. *U.S Patent* n°. 4.031.265, june 21, 1977.

HASEGAWA, S.; BENNETT, R. D.; VERDON, C. P. Detection of limonoate dehydrogenase activity in albedo tissues of *Citrus sinensis* . *Phytochemistry*, 13:103-104, 1974.

HASEGAWA, S; BENNETT, R. D.; HERMAN, Z.; FONG, C. H. Limonoids glucosides in *Citrus*. *Phytochemistry*, 28:1717-1718, 1989.

HASEGAWA, S; FONG, C. H.; HERMAN, Z.; COGGINS Jr., C. W.; ATKIN, D. R.. Changes in the limonoate A-ring lactone and limonin 17- β - D – glicopiranoside content of Navel orange during growth and maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39:262-265, 1991.

HORWITZ, W. Evaluation of analytical Methods used for regulation of foods and drugs. *Analytical Chemistry*, 54: 67, 1982.

JOURDAN, P. S; MANSELL, R. L.; OLIVER, D. G.; WEILER, E. W. Competitive solid phase enzyme-linked immunoassay for the quantification of limonin in Citrus. *Journal Biochemistry*, 138,19-24, 1984.

LANÇAS, F. M.; GALHIANE, M. S. High- temperature capillary gas chromatography (HT-CGC). *Journal. High Resolution Chromatography*, 13(9):654-655, 1990.

- KIMBALL, D. A. *Citrus Processing: Quality Control and Technology*. Published by Van Nostrand Reinhold, New York, p.136-171, 470p., 1991.
- KEFFORD, J. F.; CHANDLER, B. V. *The chemical constituents of Citrus fruits*. Academic Press, NY, 246p., 1970.
- MAIER, V. P.; GRANT, E. R.. Specific thin layer chromatography assay of limonin, a citrus bitter principle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 18(2),250-252, 1970.
- MAIER, V. P.; HASEGAWA, S.; HERA, E. Limonin D-ring-lactone hydrolase. A new enzymes from citrus seeds. *Phytochemistry*, 8:405-407, 1969.
- MAIER, V. P.; BENNETT, R. D.; HASEGAWA, S. Limonin and other limonoids. In *Citrus Science and Technology*; Nagy, S.; Shaw, P. E.; Veldhuis, M. K.. Eds. AVI publishing: Westport, CT, v.1, 355p, 1977.
- NAGY, S.; CHEN, C. H.; SHAW, P. E. *Fruit Processing Technology*. AGSCIENCE, inc.,Florida, 710p., 1993.
- NAGY, S.; SHAW, P. E.; VELDHUIS, M. K. *Citrus Science and Technology*. The AVI Publishing Company, Westport, Connecticut, 530p., 1977.
- NOOMHORM, A.; KASEMSUKSAKUL, N. Effect of maturity and processing on bitter compounds in Thai tangerine juice. *International. Journal of. Food Science Technology*, 27(1): 65–72, 1992.
- OZAKI, Y.; FONG, C. H.; HERMAN, Z.; MAEDA, H.; MIYAKE, M.; IFUKU, Y.; HASEGAWA, S. Limonoids glycosides in Citrus seeds. *Agricultural Biology Chemistry*, 55: 137-139, 1991a.
- OZAKI, Y; MIYAKE, M.; MAEDA, H.; IFUKU,Y.; BENNETT, R. D. ; HERMAN, Z.; FONG, C. H.; HASEGAWA, S. Ichangesin glucoside in Citrus Junos, Citrus Sudachi and Citrus Sphaerocarpa. *Phytochemistry*, 30:2659-2660, 1991b.

- PIFFERI, P. G.; MANENTI, I.; MORSELLI, L.; SAPGNA, G. Isolation and purification of limonin from lemon seeds. *Ital. Journal of Food Science*, 5(3):269-276, 1993.
- ROUSEFF, R. L.; FISHER, J. F. Determination of limonin and related limonoids in citrus juices by HPLC. *Analytical Chemistry*, 52:1228-1233, 1980.
- ROUSEFF, R. L.; LEE, W. E. III ; RUFNER, C. A. Time-intensity studies of citrus bitter compounds. *Dev. Food Science*, 24 (Flavors off –flavors '89), 213-223, 1990.
- SEGUI, M. V.; NAVARRO, J.L.; SENDRA; J. M. ; GASQUE, F. Determinación de limonina en zumo de naranja por cromatografía líquida de alta resolución. *Revista Espanhola. Ciencia.y Tecnologia Alimentos*, 32(2) 165-173, 1992a.
- SEGUI, M. V.; NAVARRO, J. L.; SENDRA; J. M. ; GASQUE, F. Determinación de limonina en muestras industriales de zumo de naranja. *Revista. Espanhola. Ciencia y Tecnologia Alimentos*, 32(6) 673-680, 1992b.
- SHAW, P. E.; WILSON III, C. W. A rapid for determination of limonin in Citrus juices by High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Food Science*, 49:1216-1218, 1984.
- SHAW, P. E.; WILSON III, C. W. Quantitative determination of limonin in citrus juices by HPLC computerized solvent optimization. *Journal of Chromatographic Science*, 26(9):478-481, 1988.
- WIDMER, W.W.; ROUSEFF, R. L. Improvements in the quantitation of limonin in citrus juice by reverse-phase high performance liquid chromatography. *Journal of The American Chemical Society*, :1472-1476, 1991a.
- WIDMER, W.W.; ROUSEFF, R. L. Quantitative analysis of limonin in grapefruit juice using and enzyme-linked immunoassay: interlaboratory study. *Journal of Association. Analytical Chemistry*, 74 (3): 513-515, 1991b.

CAPÍTULO II

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE SENSORIAL DO SUCO DE LARANJA(*Citrus sinensis* L. Osbeck) DE DIFERENTES VARIEDADES DE LARANJA ATRAVÉS DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA

“É muito importante que o homem tenha ideais. Sem eles não se vai a parte alguma”.

Dalai Lama

1. RESUMO

Existem disponíveis no mercado dois tipos de suco de laranja pasteurizado, pronto para consumo. A diferença principal entre esses sucos é a origem da matéria prima. Um tipo é feito a partir da reconstituição do suco concentrado (suco reconstituído de laranja) e o outro, a partir do processamento da fruta “in natura” (conhecido como suco pasteurizado não proveniente do suco concentrado, *Not From Concentrate* ou NFC), podendo variar de sabor e aroma devido as diferentes variedades disponíveis ao longo do ano.

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver uma terminologia descritiva e de perfil sensorial de suco de laranja pasteurizado NFC obtido de três variedades de laranja: Natal, Pêra e Valência, colhidas no início e fim de safra, durante duas safras consecutivas. Foram levantados atributos sensoriais que melhor definissem o aroma, sabor, textura e aparência. As amostras foram avaliadas por uma equipe treinada de oito provadores e avaliadas quanto a aceitação por trinta provadores potenciais consumidores através do teste afetivo.

Os resultados da análise descritiva indicaram que as amostras de início de safra, independente da variedade, caracterizaram-se pelos seguintes atributos: aroma de fresco e sumo, sabor fresco e sumo, ácido e amargo, diferindo-se significativamente das amostras de fim de safra que apresentaram maior intensidade dos atributos de aroma e sabor de passado e cozido. Foi encontrada correlação significativa entre aroma e sabor de fresco, e aroma e sabor de sumo, respectivamente.

O suco de laranja Pêra de fim de safra, apresentou menor intensidade de aroma e sabor de fresco caracterizando-se por ter relação sólidos solúveis e acidez titulável, “ratio” de 17.0, considerado elevado pelos padrões da indústria cítrica.

Em relação ao teste afetivo, não se obteve maior aceitação em função específica da variedade, e sim devido às características químicas e sensoriais das amostras de suco de laranja. Valores de acidez do produto elevado, causaram maior incidência de atributos

como sabor ácido e amargo e foram relevantes para menor aceitação do suco, no início do estudo de vida de prateleira. As amostras de fim de safra apresentaram maior incidência de atributos como sabor passado e cozido, principalmente após 60 dias de vida de prateleira.

2. ABSTRACT

Two types of ready to drink pasteurized orange juice for consumption are available on the market. The main difference between these juices is the origin of the raw material. One type is from the reconstitution of concentrated juice (reconstituted orange juice) and the other from the processing of the fruit “in natura” (known as pasteurized juice not proceeding from the concentrated juice, Not From Concentrate or NFC), which varies in flavor and aroma throughout the year due to the different varieties available.

The objective of the present work was to develop a descriptive terminology and sensory profile for NFC from the three varieties of orange (Natal, Pera and Valencia) harvested at the beginning and end of the harvest during two consecutive harvests. Sensory attributes were described that better defined the aroma, flavor, texture and appearance. A trained panel of eight trained judges evaluated the samples, and the acceptance was evaluated by thirty potential consumers (affective test).

The results of the descriptive analysis indicated that the samples at the beginning of the harvest, independent of the variety, were characterized by the following attributes: fresh and natural aroma, fresh and natural flavor and acid and bitter taste, differing significantly from the samples at the end of harvest that presented greater intensity of cooked and over-ripe flavors and aroma. Significant correlation was found between fresh aroma and fresh flavor and between natural aroma and natural flavor.

The end of harvest Pera orange juice presented the lowest intensity of fresh aroma and flavor and was characterized by having a ratio of 17, considered high when compared to the citrus industry standards.

With respect to the affective test, no greater acceptance as a specific function of the variety was characterized, but there was a relation with specific features of the orange juice samples. High values for acidity caused a greater incidence of comments such as acid flavor and bitter taste, leading to a lower acceptance of the juice at the beginning of the

shelf life. The samples from the end of harvest showed a greater incidence of comments such as over-ripe and cooked flavor, mainly after 60 days of shelf life.

3. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos houve um aumento do consumo do suco de laranja fresco, em embalagem plásticas e também de suco pasteurizado embalado em embalagem cartonada. Em 1997, o consumo de suco tipo longa vida chegou a 100 milhões de litros. A tendência de se aumentar o consumo deste tipo de produto parece ser fato inquestionável, em função da praticidade da vida moderna (ABECITRUS, 2000).

As indústrias que produzem suco de laranja pasteurizado diretamente da fruta disponível, e não a partir do suco concentrado, enfrentam sério problema tecnológico. As frutas apresentam variabilidade em suas características químicas e sensoriais devido às características naturais intrínsecas de cada variedade e alterações entre as safras.

Essas variações tem sido relacionadas a fatores como características genéticas da variedade, região geográfica, solo, clima, índice pluviométrico, número de folhadas e outros fatores, os quais tem dificultado a padronização sensorial do produto acabado, causando insatisfação do consumidor.

A qualidade do fruto aumenta com sua maturação. O sabor é um dos principais fatores de qualidade, mas outros atributos como aroma, textura e cor contribuem também para a qualidade total do fruto. O sabor do fruto e do suco, podem ser afetados, tanto pelo fruto imaturo, quanto pelo fruto muito maduro. Quando a fruta atinge uma determinada relação entre sólidos solúveis e acidez, o sabor e características sensoriais do fruto não maduro desaparecem (Ting & Attaway, 1971; Bettini, 1995).

A curva de maturação dos frutos se processa de forma complexa, em que interagem a temperatura do ar, radiação solar, água disponível nas raízes, além de fatores locais de relevo, como localização geográfica, face de exposição solar e características varietais. O amadurecimento dos frutos cítricos é caracterizado pelo aumento gradual de suco, decréscimo no teor de acidez, aumento na quantidade de sólidos solúveis (principalmente os açúcares) no suco, desenvolvimento de cor, aroma e sabor próprios de

cada variedade, e a relação entre a quantidade de sólidos solúveis e ácidos (Nagy *et al.*, 1990).

Os conhecimentos sobre as variedades de laranja para produção de suco, são interessantes não só no aspecto de rendimento em suco, como também na qualidade química e sensorial do suco final (Shaw & Wilson, 1980). Dentre as variedades de laranja comercialmente importantes no Brasil destacam-se as variedades Pêra e Valência que representam 50% e 10% respectivamente do total de variedades comercializadas (Rodriguez, 1991).

Vários autores estudaram as características químicas, sensoriais e componentes voláteis presentes em suco de laranja obtidos de diferentes variedades. As características individuais de cada variedade são fatores de grande importância devido a sua contribuição na qualidade final do suco pasteurizado (Wolford *et al.*, 1963; Nisperos-Carriedo & Shaw, 1990; Shaw & Wilson, 1980; Bettini, 1995; Benassi Jr., 2001).

A análise descritiva quantitativa proporciona uma completa descrição de quase todas as propriedades sensoriais de um produto, representando um dos métodos mais completos e sofisticados para a caracterização sensorial de atributos importantes (Stone & Sidel., 1998).

3.1. ANÁLISE SENSORIAL

Segundo Meilgaard *et al.* (1991), a cadeia de percepção sensorial envolve as seguintes etapas básicas: o estímulo, que alcança o órgão sensor e é convertido em sinal nervoso transportado até o cérebro, que organiza e interpreta a sensação recebida em percepção. Por último uma resposta é elaborada com base na percepção. A diferença entre sensação e percepção no mecanismo cerebral, é que a sensação é um fenômeno mais periférico e a percepção mais central, esta última influenciada por um pré-condicionamento do indivíduo.

Em geral, observamos os atributos de um produto na seguinte ordem: aparência, odor/aroma/fragrância, consistência ou textura e sabor (aroma + sensações químicas + gosto). Apesar disto, no processo global de percepção, os atributos se sobrepõem uma vez que todas as impressões surgem quase que simultaneamente e só o treinamento tornará as pessoas capacitadas a avaliá-los de forma isolada (Meilgaard *et al.*, 1991)

A avaliação sensorial da qualidade de um alimento não é uma tarefa fácil. A qualidade é uma resposta complexa às propriedades sensoriais do produto, que se baseia nas expectativas e experiências prévias de um indivíduo em relação ao produto. É uma resposta individual e subjetiva, que varia de pessoas para pessoa, devido às diferenças individuais de experiências, expectativas e preferências. Portanto, é de se esperar que os provadores mais experientes e sensíveis tenham diferenças de opinião a respeito da qualidade de um alimento.

Diferentes métodos podem ser utilizados na análise sensorial dependendo do objetivo do teste. De uma maneira geral, os métodos diferenciam-se em métodos discriminativos, métodos descritivos e os métodos afetivos de produtos.

3.1.1. Métodos Discriminativos

Os testes discriminativos são utilizados para confirmar a existência de pequenas diferenças nas características de amostras ou produto (verificar diferença entre lotes, quando se substitui ingredientes, estudos de vida de prateleira, etc.) e também para selecionar julgadores de equipes treinadas. Nestes tipos de testes, em geral o provador é forçado a escolher uma amostra. Esta escolha pode ser designada como correta ou incorreta. Se a frequência de respostas corretas for maior que a esperada por acaso, então a diferença existe (Amerine *et al.*, 1965). Como exemplos, destes tipos de testes, temos: Teste Triangular; Teste duo-trio; Teste de Comparação Pareada, Teste A ou não A. (Amerine *et al.*, 1965).

3.1.2. Métodos Descritivos

Os métodos descritivos descrevem e avaliam a intensidade dos atributos sensoriais de produtos. Assim, pode-se dizer que os métodos descritivos possuem dois aspectos: a) aspecto qualitativo, que diz respeito à descrição do produto avaliado quanto as suas características sensoriais e b) aspecto quantitativo, que avalia a intensidade de cada característica sensorial presente no produto (Meilgaard *et al.*, 1988).

A técnica da análise descritiva exige uma equipe previamente treinada para avaliação do produto. Os julgadores devem ser capazes de detectar e descrever as características sensoriais de uma amostra. Estes aspectos qualitativos do produto devem permitir defini-los e diferenciá-los dos outros. Além disso, os julgadores devem saber indicar a intensidade com que o atributo é percebido nas amostras – aspecto quantitativo, permitindo a discriminação e caracterização das diferenças entre as amostras (Meilgaard *et al.*, 1991).

De maneira geral, a análise descritiva é apropriada quando se requer informações detalhadas sobre os atributos de um produto, a exemplo das seguintes situações: documentação das características sensoriais, identificação e quantificação dos atributos sensoriais para orientação de uma pesquisa, manutenção de um produto ou comparação e entre produtos similares, correlações entre mediadas instrumentais e determinações químicas com respostas sensoriais, definição de um padrão ou referência para controle de qualidade (Meilgaard *et al.*, 1991).

Em qualquer método de Análise Descritiva, a primeira etapa a ser cumprida é o desenvolvimento de uma lista de termos verbais (descritores) que descrevem os produtos avaliados. Essa lista inclui termos que juntos, ajudam a definir o perfil sensorial do produto avaliado.

Entre os métodos descritivos mais conhecidos temos: Perfil de Sabor (Artur D. Little in Meilgaard *et al* 1987), Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) ou na versão em inglês, QDA® (Stone & Sidel, 1974) E Perfil de textura (Civille & Szczesniak, 1973).

3.1.3. Métodos Afetivos

Os testes afetivos têm por objetivo, conhecer a opinião de um determinado grupo de consumidores que consomem o produto de interesse, ou seja, da população alvo do produto. Essa opinião pode ser dada com relação ao produto de uma forma global, ou com relação a algumas características específicas do produto (Meilgaard *et al.*, 1991).

Em geral, os testes afetivos, ou testes de consumidores, são aplicados frente a quatro objetivos básicos: verificação do posicionamento do produto no mercado, otimização da formulação do produto, desenvolvimento de novos produtos e avaliação do potencial do mercado (Stone & Siedel, 1993; Meilgaard *et al.*, 1991).

Os testes afetivos podem ser classificados em dois tipos: os testes de aceitação, que avaliam quanto os consumidores gostam ou desgostam de um ou mais produtos; e os testes de preferência, que medem a preferência dos consumidores de um produto sobre os demais (Meilgaard *et al.*, 1991).

Os testes de preferência são chamados “testes de escolha forçada”, porque obrigam o provador a escolher um ou mais produtos. Esses testes, entretanto, não indicam o grau de aceitação das amostras avaliadas. Os testes de preferência mais utilizados são: comparação pareada, ordenação e preferência múltipla variada (Meilgaard *et al.*, 1991).

O teste de aceitação tem por objetivo avaliar o quanto o consumidor gosta ou desgosta de um ou mais produtos. Embora este teste não avalie diretamente a intenção de compra do produto, nem dimensione a porção do mercado que, de fato, adquirirá o produto, o teste de aceitação tem sido muito útil como um teste a ser aplicado antes dos testes de pesquisa de mercado, os quais incluem estratégia de propaganda, preço e embalagem do produto, de forma a predizer o sucesso de venda do mesmo (Stone & Siedel, 1993).

Os resultados dos testes afetivos, como em outros métodos sensoriais, podem sofrer influência de vários fatores. Dentre eles, a possibilidade de uma amostra exercer influência sobre a amostra subsequente (efeito de contraste ou adaptação), durante a avaliação pelo provador, é muito comum. Esse efeito, de natureza psicológica e fisiológica, é chamado “first order carry over effect” (Amerine *et al.*, 1965). Para minimizar esses efeitos em testes sensoriais, sugere-se que as amostras sejam apresentadas ao provador de forma balanceada, e não apenas aleatorizada. MacFie *et al* (1989) recomendam o uso de quadrados latinos, onde as amostras são apresentadas aos consumidores em blocos completos e balanceados. Através desse delineamento, cada amostra ocorre igual número de vezes em cada posição, sendo precedida e sucedida por cada uma das demais amostras, o mesmo número de vezes.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL

Foram utilizadas laranjas das variedades Natal, Pêra e Valência, provenientes de uma fazenda na cidade de Santa Cruz do Rio Pardo da região centro-oeste do Estado de São Paulo. As amostras foram previamente selecionadas quanto a zona e talhão de plantio e foram feitas colheitas no início e fim de safra de cada variedade, em um período máximo de 70 dias entre o início e fim de safra, em duas safras consecutivas (98/99 e 99/2000). As amostras de laranja foram processadas para produção do suco pasteurizado, em uma planta industrial localizada no mesmo local de obtenção da matéria prima, conforme descrito no Capítulo III deste trabalho.

4.2. MÉTODOS

Inicialmente, 24 provadores foram recrutados de acordo com sua disponibilidade para execução dos testes, interesse e frequência de consumo de suco de laranja pasteurizado. O poder discriminativo dos candidatos foi avaliado, segundo método recomendado por Meilgaard *et al.* (1988), através de análise seqüencial, utilizando-se testes triangulares com duas amostras de suco de laranja, uma produzida a 5 dias e outra com 30 dias de vida de prateleira, sendo selecionados os provadores que alocaram-se nos seguintes parâmetros pré-definidos: $p_0=0,33$ (máxima habilidade inaceitável); $p_1=0,66$ (mínima habilidade aceitável) e valores iguais a 0,20 para α (probabilidade de aceitar um candidato sem acuidade) e β (probabilidade de rejeitar um candidato com acuidade).

Doze candidatos, pré-selecionados, 4 mulheres e 8 homens, com faixa etária de 18 a 40 anos foram utilizados para levantamento dos termos descritivos. O desenvolvimento da terminologia descritiva das amostras de suco de laranja foi realizado

baseando-se no Método de Rede proposto por Kelly (1955), citado por Moskowitz (1983). As amostras foram apresentadas aos pares e foi solicitado ao provador que agrupasse as amostras mais similares com relação ao aroma, sabor, textura e aparência e também descrevesse as diferenças entre as amostras apresentadas. Depois do levantamento dos termos, a equipe se reuniu de quatro a seis vezes e através de um debate, com um moderador, foram escolhidos os termos mais apropriados e importantes, que realmente descrevessem os atributos das amostras. Com os atributos escolhidos, foram preparadas referências desses atributos para definição de cada tributo e de sua intensidade para determinar os extremos da escala de avaliação sensorial. Foram elaboradas as fichas de avaliação, com escalas não estruturadas de nove centímetros, ancoradas nos pontos extremos, à esquerda pelo termo fraco/pouco/ nenhum e a direita com o termo muito/forte.

Para a seleção dos provadores que comporiam a equipe final de análise descritiva de suco de laranja, três amostras foram avaliadas em três repetições pelos indivíduos treinados. Os resultados de cada provador, para cada atributo, foram avaliados através de Análise de Variância (ANOVA) (fontes de variação: amostras e repetição). Os níveis de significância de $F_{amostra}$ ($p_{Famostra}$) e de $F_{repetição}$ ($p_{Frepetição}$) foram computados e utilizados como critérios de seleção dos provadores. Provadores mostrando $F_{amostra} < 0.50$, $p_{Frepetição}$ não significativo para $p > 0.05$ e consenso com a equipe sensorial, através da concordância das médias de cada atributo com a média da equipe, para a maior parte dos atributos avaliados, foram selecionados para compor a equipe descritiva. Assim, quatro provadores foram eliminados e a equipe descritiva final foi composta por oito provadores.

As amostras de suco das diferentes variedades foram provadas em cabines individuais, em béqueres de 50 mL de vidro codificados com números de três dígitos, sendo servidos 30 mL de suco a temperatura refrigerada (8°C). As amostras foram apresentadas de forma monádica, com 3 repetições aleatorizadas.

Com os dados coletados foi realizada ANOVA tendo como fonte de variação, amostras, provadores e interação amostra x provadores com interação para cada atributo. Foi aplicado teste de Tukey para comparação das médias das amostras. Foi realizada

também análise de Componentes Principais. As análises estatísticas foram realizadas usando o pacote estatístico SAS®.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quinze termos descritores relacionados ao aroma, sabor do suco foram desenvolvidos pelos provadores para descrever as similaridades e diferenças entre as amostras de suco de laranja. Os descritores e suas respectivas referências estão descritos na Figura 1 e Figura 2.

Após as sessões de treinamento, onde foram definidos os descritores e referências, foi elaborada uma ficha, de maneira consensual com a equipe, para avaliação descritiva (Figura 2).

Para facilitar a identificação das amostras utilizamos uma codificação na qual o nome da variedade seguido dos números 1 e 2 indica a análises feita no início e fim da primeira safra estudada respectivamente. As amostras codificadas com os números 3 e 4 indicam as amostras de início e fim da segunda safra estudada respectivamente.

A Tabela 1 apresenta as médias de cada atributo avaliado, para cada uma das doze amostras estudadas.

Os aromas e sabores menos desejados no suco de laranja pasteurizado são os que se referem a uso de uma matéria prima com seu ponto de maturação já em fase de declínio, realçando aroma e sabor de passado.

Outro fator bastante negativo nos sucos processados e tratados termicamente está relacionado a atributos como aroma e sabor cozido, que em geral, mascaram a sensação de frescor do suco.

<u>AROMA</u>	DEFINIÇÃO	REFERÊNCIA
FRESCO	Característico do aroma de suco recém extraído	<u>FRACO</u> : suco extraído em espremedor doméstico e mantido em estufa 37°C durante 2,5 horas <u>FORTE</u> : suco recém extraído em espremedor doméstico
PASSADO	Característico de suco processado com laranja passada/murcha	<u>NENHUM</u> : suco recém extraído a partir de laranjas ainda verdes, <i>Ratio</i> 10/12. <u>FORTE</u> : suco de laranja extraído utilizando-se laranjas murchas, bem passadas, misturadas com laranjas maduras na proporção 3:7
COZIDO	Característico de suco submetido a tratamento térmico	<u>FRACO</u> : suco recém extraído, suco fresco <u>FORTE</u> : suco de laranja pasteurizado aquecido (fervura por 3 minutos).
SUMO	Característico da casca da laranja ao ser espremida	<u>FRACO</u> : suco de laranja “de vez” extraído em extratora doméstica diluído com água na proporção 3:2 <u>FORTE</u> : suco de laranja pasteurizado misturado com cascas de laranja sumo extraído da casca da laranja
<u>SABOR</u>		
FRESCO	Característico do suco recém-extraído	<u>POUCO</u> : suco de laranja pasteurizado armazenado a temperatura ambiente por 60 dias <u>MUITO</u> : suco de laranja recém extraído
COZIDO	Característico de suco processado termicamente	<u>POUCO</u> : suco de laranja recém extraído, suco fresco <u>MUITO</u> : suco de laranja pasteurizado aquecido (fervura) por 3 minutos
PASSADO	Característico de suco produzido com laranjas passadas	<u>NENHUM</u> : suco de laranja extraído com laranja “de vez” <u>MUITO</u> : suco de laranja “de vez” pasteurizado misturado com suco de laranjas murchas na proporção de 6:2
AMARGO	Sensação residual na boca após ingestão	<u>NENHUM</u> : suco de laranja variedade Pêra <i>Ratio</i> 15, pasteurizado, diluído 70% e adoçado com sacarose a 14°Brix. <u>MUITO</u> : suco de laranja variedade Pêra pasteurizado (10,5 °Brix) adicionado de 0,07% de cafeína.
ÁCIDO	Característico de suco extraído de laranja verde	<u>POUCO</u> : suco de laranja “de vez” diluído com água na proporção 3:1 (acidez aprox. de 0,35%) <u>MUITO</u> : suco de laranja com acidez final de 1,2% após adição de ácido cítrico.
DOCE	Característico de suco de laranja da variedade lima	<u>POUCO</u> : suco extraído de laranja verdes, com 9,5°Brix e acidez 0,90%. <u>MUITO</u> : suco de laranja maduras com adição de sacarose até 16°Brix.
SUMO	Característico da presença do óleo essencial da casca no suco	<u>POUCO</u> : suco de laranja extraído em espremedor doméstico e diluído com água na proporção 1:1. <u>MUITO</u> : suco de laranja misturado com cascas de laranja espremida

Figura 1: Definição dos termos descritores e referências utilizadas como extremos de escala de intensidade de aroma e sabor na análise descritiva de suco de laranja pasteurizado.

<u>TEXTURA</u>	<u>DEFINIÇÃO</u>	<u>REFERÊNCIA</u>
CORPO	Característico da amostra apresentar resistência ou recobrimento da língua	<u>POUCO</u> : Suco de laranja integral diluído com água 3:2 <u>MUITO</u> : Suco de laranja concentrado diluído com água a 18°Brix
<u>APARÊNCIA</u>		
COR	Cor variando de amarelo a alaranjado	<u>AMARELO</u> : Suco de Laranja Pasteurizado variedade Pêra diluído na proporção 3:2 <u>ALARANJADO</u> : Suco integral de Tangerina variedade Murcot
PRESENÇA DE FRAGMENTOS	Característico da presença de partículas brancas precipitadas ou dispersas no suco	<u>NENHUM</u> : Ausência de partículas <u>MUITOS</u> : Presença de mais de 15 partículas da polpa dispersas
HOMOGENEIDADE	Característico da amostra não apresentar dispersão ou separação de uma segunda fase.	<u>POUCA</u> : Suco concentrado reconstituído a 11,5°Brix e deixado em repouso por 3 horas <u>MUITA</u> : Refresco artificial de laranja marca Fresh preparado conforme orientação do rótulo.

Figura 2: Definição dos termos descritores e referências utilizadas como extremos de escala de intensidade de textura e aparência na análise descritiva de suco de laranja pasteurizado.

Nome: _____ Data: _____

Amostra: _____

Por favor, prove a amostra e avalie cada um dos atributos abaixo, indicando com um **traço vertical** o ponto da escala que **melhor quantifique a intensidade** de cada atributo

AROMA

Fresco	_____
	fraco forte
Passado	_____
	nenhum forte
Cozido	_____
	fraco forte
Sumo	_____
	fraco forte

SABOR

Fresco	_____
	pouco muito
Cozido	_____
	pouco muito
Passado	_____
	nenhum muito
Amargo	_____
	nenhum muito
Ácido	_____
	pouco muito
Doce	_____
	pouco muito
Sumo	_____
	pouco muito

TEXTURA

Corpo	_____
	pouco muito

APARÊNCIA

Cor	_____
	amarelo alaranjado
Fragmentos	_____
	nenhum muitos
Homogeneidade	_____
	pouca muita

Figura 3: Ficha de avaliação descritiva utilizada para ADQ de suco de laranja.

As figuras 4, 5 e 6 apresentam os perfis sensoriais das amostras de suco de laranja das variedades Natal, Pêra e Valência respectivamente. De maneira geral, as amostras de início de safra (códigos 1 e 3) para as três variedades caracterizaram-se por uma maior intensidade dos atributos de aroma fresco e de sumo e sabor fresco, ácido e amargo e foram caracterizados por apresentarem baixas intensidade de aroma e sabor de cozido e passado. Por outro lado, as amostras de fim de safra (códigos 2 e 4) apresentaram maiores intensidade de atributos negativos como aroma e sabor de cozido e passado. Podemos observar que a amostra de suco de laranja Valência apresentou menor variabilidade, no conjunto dos atributos, entre as amostras colhidas no início e fim de safra e entre as duas safras.

Independente da variedade, as amostras que apresentaram valores de aroma e sabor de fresco maior, tiveram menor intensidade de aroma de passado e cozido. Os resultados estatísticos mostraram uma correlação inversa entre sabor fresco e aroma passado ($r = -0.68$, $p < 0.05$).

O aroma de sumo e aroma de fresco obtiveram um coeficiente de correlação direta ($r = 0.69$, $p < 0.05$), assim como os atributos de aroma de fresco e sabor de sumo também apresentaram correlação direta ($r = 0.62$). As amostras que apresentaram maiores intensidades de aroma e sabor de fresco, também apresentaram maior intensidade dos atributos de aroma e sabor de sumo.

Tabela 1: Média da intensidade de cada atributo de aroma e sabor para as variedades estudadas nas diferentes épocas de maturação e colheita.

ATRIBUTOS										
AMOSTRAS	AROMA				SABOR					
	Fresco	Passado	Cozido	Sumo	Fresco	Cozido	Pass.	Amargo	Ácido	Doce
NATAL1	5.66 ^a	0.93 ^{cd}	1.40 ^{cb}	2.03 ^a	5.54 ^a	1.07 ^{bcd}	0.87 ^{def}	1.95 ^{ab}	5.08 ^{bc}	4.88 ^a
NATAL2	4.05 ^{de}	1.94 ^a	2.47 ^a	0.80 ^{cd}	3.95 ^{de}	2.51 ^a	2.33 ^a	1.43 ^{bcd}	4.95 ^{bcd}	4.28 ^{abcd}
NATAL3	4.71 ^{bcd}	0.88 ^{cd}	1.24 ^{cbd}	1.27 ^{bc}	4.86 ^{abc}	0.98 ^{cd}	0.96 ^{def}	0.80 ^e	4.74 ^{bcd}	4.50 ^{abc}
NATAL4	3.67 ^{ef}	1.31 ^{bc}	1.73 ^b	1.23 ^{bc}	3.90 ^{def}	1.32 ^{bc}	1.10 ^{def}	0.90 ^{de}	3.68 ^{ef}	3.80 ^{cde}
PERA1	4.42 ^{cd}	1.15 ^{bc}	1.29 ^{cb}	1.99 ^a	4.15 ^{cd}	1.61 ^b	1.03 ^{def}	1.69 ^{bc}	4.90 ^{bcd}	3.55 ^{de}
PERA2	3.42 ^{ef}	1.57 ^{ab}	1.72 ^b	1.15 ^{bc}	3.75 ^{def}	1.48 ^{bc}	1.36 ^{bcd}	1.26 ^{bcd}	3.11 ^{fg}	4.02 ^{cde}
PERA3	3.55 ^{ef}	1.57 ^{ab}	1.43 ^{cb}	0.64 ^{cd}	3.19 ^{fg}	1.06 ^{bcd}	1.77 ^{bc}	2.65 ^a	6.52 ^a	3.37 ^e
PERA4	3.15 ^f	1.81 ^a	1.73 ^b	0.49 ^{cbd}	2.83 ^g	1.46 ^{bc}	1.88 ^{ab}	1.68 ^{bc}	2.94 ^g	4.08 ^{bcd}
VALÊNCIA1	5.15 ^{ab}	0.89 ^{cd}	1.80 ^{cd}	2.03 ^a	5.22 ^{ab}	1.02 ^{cd}	0.76 ^{ef}	1.56 ^{bcd}	5.20 ^b	3.94 ^{cde}
VALÊNCIA2	4.63 ^{bcd}	1.10 ^c	1.41 ^{cb}	1.35 ^{bc}	4.73 ^{bc}	1.34 ^{bc}	1.09 ^{def}	1.14 ^{cde}	3.97 ^e	3.89 ^{cde}
VALÊNCIA3	4.87 ^{bc}	0.55 ^d	0.72 ^d	0.87 ^{bcd}	5.12 ^{ab}	0.67 ^d	0.62 ^f	0.92 ^{de}	4.39 ^{de}	4.77 ^{ab}
VALÊNCIA4	3.14 ^f	1.03 ^c	0.91 ^{cd}	0.81 ^{cbd}	3.39 ^{cfg}	0.93 ^{cd}	1.22 ^{cde}	1.52 ^{bcd}	4.40 ^{cde}	3.95 ^{cde}
MDS**	0.68	0.46	0.53	0.63	0.75	0.56	0.55	0.71	0.73	0.72

Médias na coluna, com mesma letra, não diferem significativamente entre si (p<0,05)

N = 39 (13 provadores, 3 repetições)

**MDS = Mínima Diferença Significativa ao nível de 5% de significância

Amostras codificadas como **1** e **2** representam a **primeira safra** estudada da respectiva variedade, sendo que as amostras com código 1 são provenientes de laranja de início da safra e 2 do fim da safra.

Amostras codificadas como **3** e **4** representam a **segunda safra** estudada, sendo que as amostras com código 3 são provenientes do início da safra e 4 do fim da safra.

Os atributos relacionado aos aromas de passado e cozido obtiveram um coeficiente de correlação moderado ($r = 0,74$ $p<0,05$), indicando a possibilidade desses aromas serem provenientes de reações químicas intrínsecas ao suco que poderiam gerar esses dois atributos.

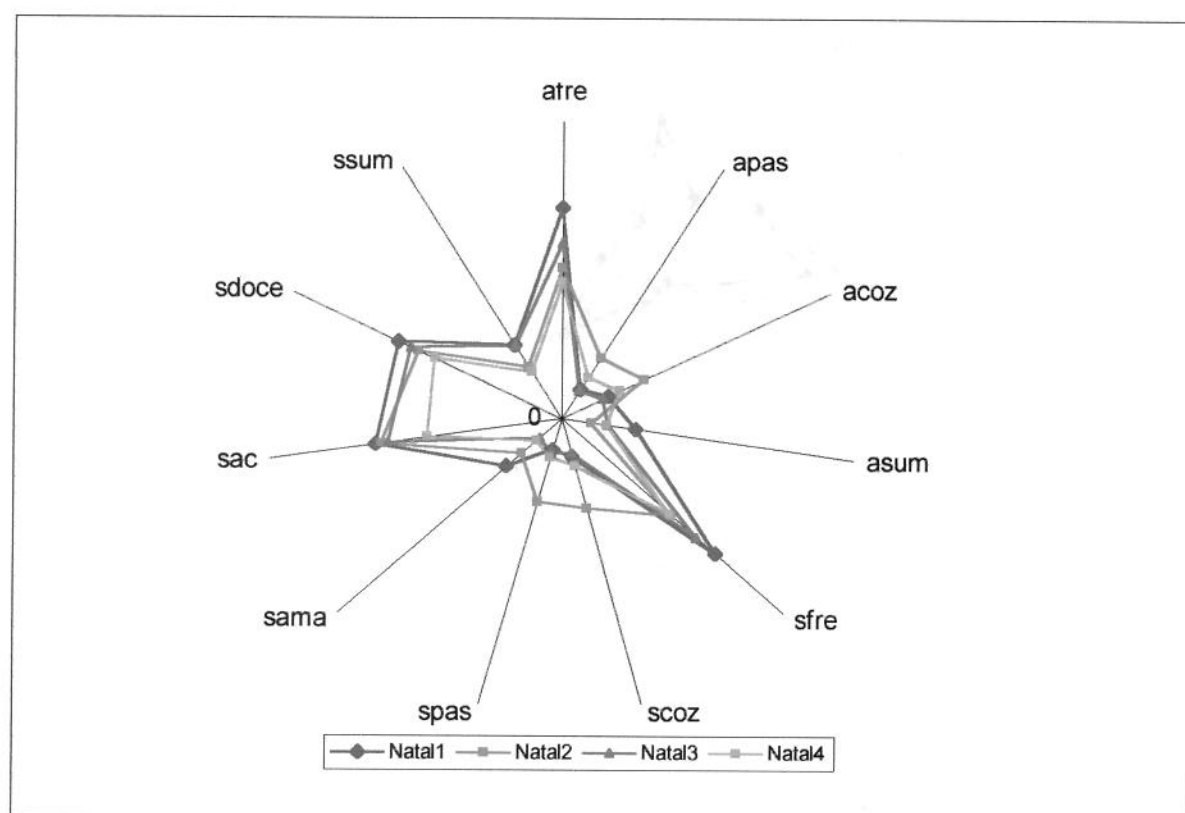


Figura 4: Perfil sensorial das amostras de amostras de suco de laranja Natal da primeira (Natal 1 e 2) e da segunda safra (Natal 3 e 4).

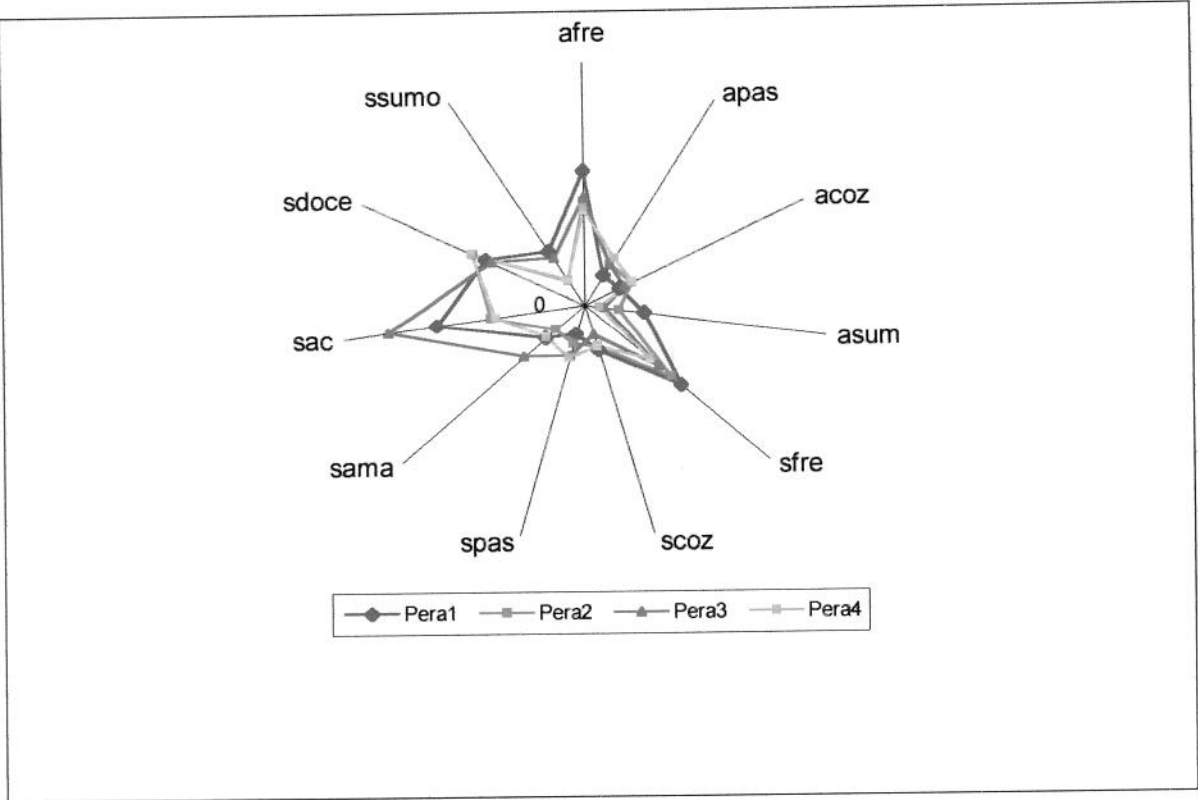


Figura 5: Perfil sensorial das amostras de amostras de suco de laranja Pêra da primeira (Pêra 1 e 2) e da segunda safra (Pêra 3 e 4).

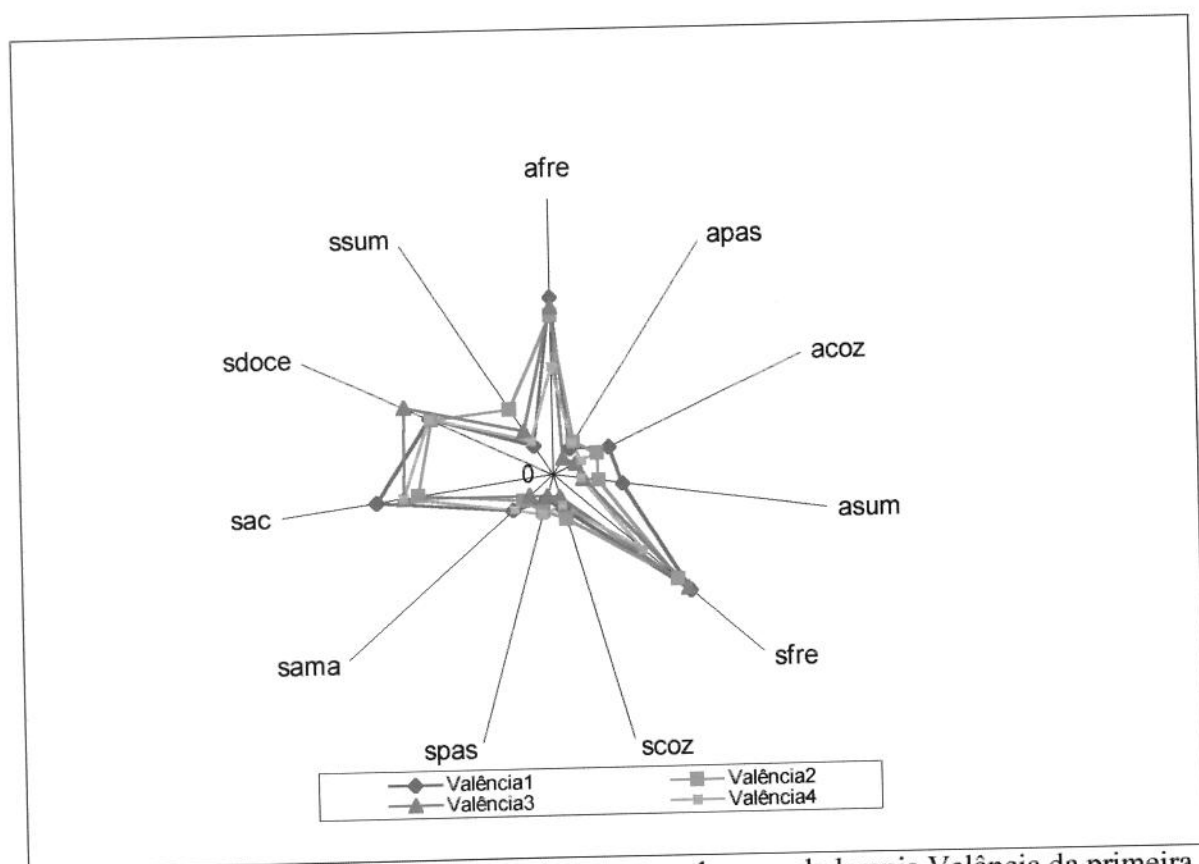
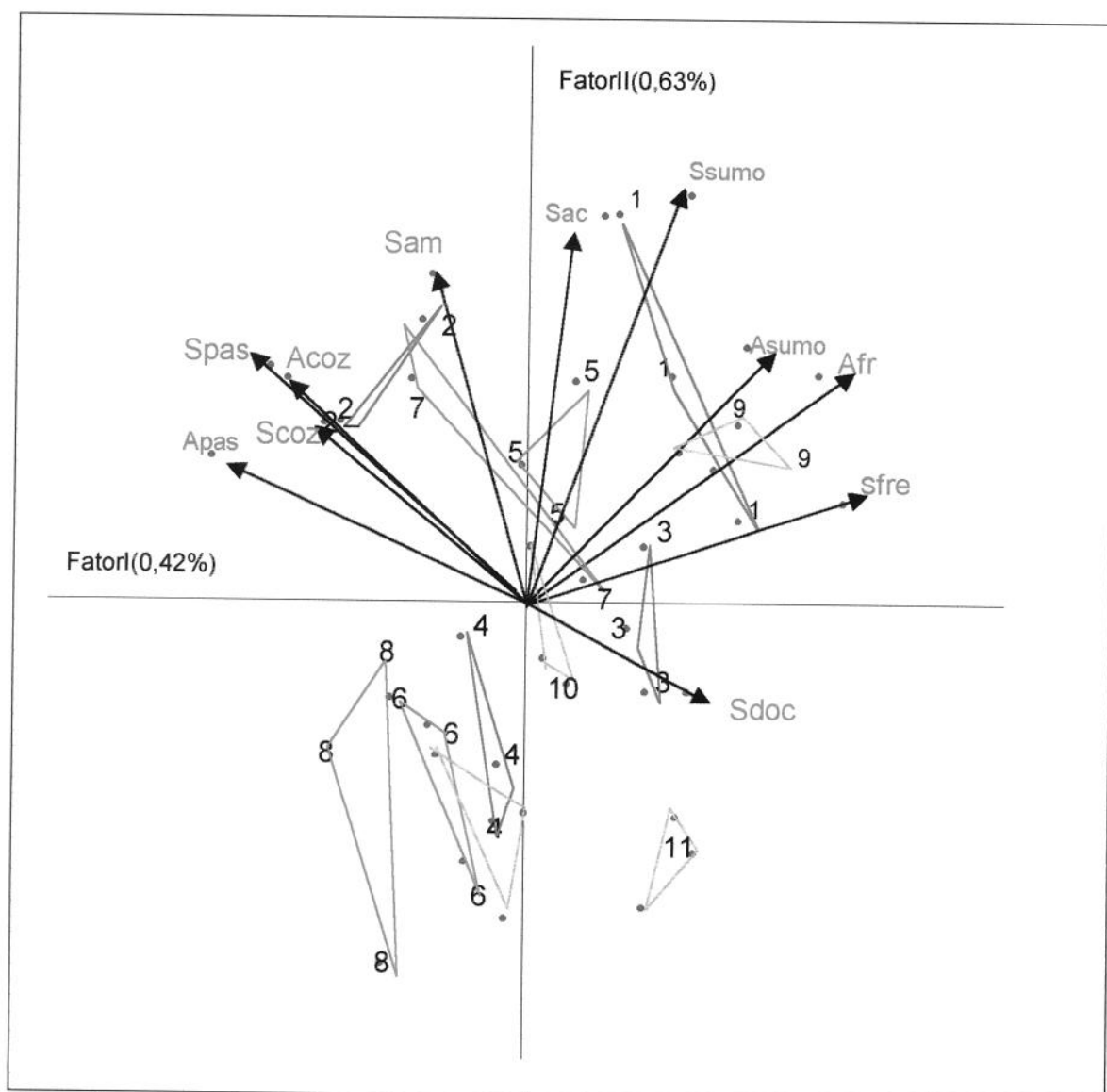


Figura 6: Perfil sensorial das amostras de amostras de suco de laranja Valência da primeira (Valência 1 e 2) e da segunda safra (Valência 3 e 4).

Quando o número de amostras é grande e o número de atributos elevado, a análise de resultados através da simples visualização das médias (tabela 1) é dificultada. O gráfico da Análise de Componente Principal (ACP), Figura 7, é uma ferramenta fundamental para discriminar os efeitos dos atributos e sua interação com as amostras que ocorreram no estudo.

Podemos observar que as amostras foram diferenciadas em dois grandes grupos. Amostras de número ímpar (1, 3, 5, 7 e 9), representando as amostras de início de safra para todas as variedades e que foram caracterizadas pelos aromas de fresco e sumo e pelo sabor fresco, ácido e sumo. Amostras de número par (2, 4, 6 e 8) caracterizadas pelos vetores dos atributos de aroma de passado e cozido e sabor de passado e cozido. A amostra de suco de laranja Valência do início da segunda safra, apresentou característica de aroma e sabor de fresco e elevado sabor doce, diferenciado-se significativamente ao nível de 5% de quase todas as amostras de início de safra que em geral apresentaram elevado sabor ácido e pouca doçura.

Podemos observar que o nível de maturação da fruta, e conseqüentemente, as características intrínsecas ao grau de maturação, diferenciam de maneira significativa as características sensoriais do suco de laranja.



Legenda:

Suco de Laranja Natal	Suco de Laranja Pêra-Rio	Suco de Laranja Valência
1 – Início da Primeira Safra	5 – Início da Primeira Safra	9 – Início da Primeira Safra
2 – Fim da Primeira Safra	6 – Fim da Primeira Safra	10 – Fim da Primeira Safra
3 – Início da Segunda Safra	7 – Início da Segunda Safra	11 – Início da Segunda Safra
4 – Fim da Segunda Safra	8 – Fim da Segunda Safra	12 – Fim da Segunda Safra

Figura 7: Projeção dos atributos sensoriais de sabor e aroma (vetores) e amostras (1 a 12) nos componentes principais I e II.

Tabela 2: Média da intensidade de cada atributo de textura e aparência para as variedades estudadas nas diferentes épocas de maturação e colheita.

AMOSTRAS	TEXTURA	APARÊNCIA		
	CORPO	COR	FRAGMENTOS	HOMOGENEIDADE
NATAL1	4.80 ab	6.02 a	2.01 cde	7.07 a
NATAL2	3.77 c	4.70 bc	2.15 cd	6.3 ab
NATAL3	3.88 c	4.73 bc	1.15 de	5.57 bcd
NATAL4	3.71 c	4.03 c	1.13 de	5.31 bcd
PERA1	3.85 bc	4.15 c	3.61 b	5.45 bcd
PERA2	3.55 c	3.89 c	2.77 bc	4.88 d
PERA3	3.87 bc	4.77 bc	5.31 a	6.14abc
PERA4	5.37 a	6.10 a	1.35 de	6.88 a
VALÊNCIA1	4.17 bc	6.27 a	1.46 de	6.99 a
VALÊNCIA2	4.00 bc	4.75 bc	1.84 cde	5.00 cd
VALÊNCIA3	4.43 abc	5.38 ab	1.46 de	7.04 a
VALÊNCIA4	4.33 bc	4.71 bc	0.95 e	6.87 a
MDS**	0.95	0.96	1.14	1.24

Médias na coluna, com mesma letra, não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$)

N = 39 (13 provadores, 3 repetições)

**MDS = Mínima Diferença Significativa ao nível de 5% de significância

Amostras codificadas como 1 e 2 representam a **primeira safra** estudada da respectiva variedade, sendo que as amostras com código 1 são provenientes de laranja de início da safra e 2 do fim da safra.

Amostras codificadas como 3 e 4 representam a **segunda safra** estudada, sendo que as amostras com código 3 são provenientes do início da safra e 4 do fim da safra.

A Tabela 2 apresenta os valores de médias dos atributos para avaliação da textura e aparência das amostras de suco de laranja. Para o atributo corpo, houve diferença significativa entre as amostras de laranja Pêra de uma safra para outra. Também para a amostra de laranja Natal, foi verificada diferença entre as amostras do início e fim da primeira safra. O suco de laranja Pêra do fim da segunda safra apresentou maior intensidade do atributo corpo (5.37). A maior intensidade de corpo do suco de laranja, está diretamente relacionado a porcentagem de polpa e pectina solúvel presente no suco que estão relacionados processo de extração e ao índice de maturação da fruta,

respectivamente. Conforme o fruto amadurece, aumenta-se a porcentagem de pectinas solúveis e o suco apresenta-se mais espesso ou viscoso(Nagy *et al.*, 1977).

A cor é um dos aspectos mais importantes em relação a aparência e aceitação do produto. As variedades de laranja apresentam, em geral, a polpa com cor mais clara no início da safra, devido a menor quantidade de carotenóides e mascaramento causado pela clorofila e mais alaranjada do meio da safra, quando a quantidade de carotenóides aumenta significativamente. Algumas variedades, como a laranja Hamlim, apresentam um suco de cor clara durante toda safra. O suco da laranja Valência apresenta cor alaranjada mais intensa desde o início da safra, principalmente em função dos tipos de carotenóides presentes na polpa (α e ζ -caroteno, criptoxantina, luteína, mutatoxantina, luteoxantina) e de suas quantidades (Gross, 1977).

Em nossos resultados não foi verificada uma relação direta entre a fruta de início de safra e a cor mais amarela, ou a fruta de fim de safra e a cor mais alaranjada. Podemos observar uma variabilidade significativa ao nível de 5% de probabilidade entre os valores de cor encontrados para as amostras estudadas.

Houve uma moderada correlação entre os dados de cor e corpo ($r = 0.71$) e entre os atributos cor e homogeneidade ($r = 0.66$).

Os valores de fragmentos indicam a possibilidade de partículas originadas do albedo da laranja terem migrado para o suco, durante o processo de extração. Foi observado maior tendência no aparecimento desses fragmentos no suco da laranja Pêra, diferindo significativamente ao nível de 5% em relação às demais amostras. Observa-se na Tabela 2 um elevado conteúdo desses fragmentos no suco obtido da laranja Pêra de início de safra. Esse conteúdo de fragmentos do albedo no suco pode ser a causa da maior intensidade de amargor percebido pelos provadores para essa amostra (Tabela 1).

5.2. TESTE AFETIVO

Os testes afetivos foram feitos com 30 provadores com faixa etária entre 18 e 50 anos, consumidores em potencial de suco de laranja.

Os resultados dos testes afetivos mostraram que não houve correlação significativa em relação a variedade da amostra de suco de laranja e a maior aceitação dos provadores, ou seja, não foi detectada uma preferência em relação a alguma das variedades.

Entretanto, as amostras de suco de laranja Valência, da primeira safra, apresentaram uma melhora significativa de sua aceitação durante a vida de prateleira (o que não era esperado, porque em geral o suco diminui sua aceitação durante estocagem) e também maior porcentagem de comentários pelos provadores de atributos como sabor característico de laranja, sabor doce e corpo, indicando um melhor desempenho dessa variedade em relação a aceitação do suco.

A amostra com menor aceitação sensorial (5.90), no início do armazenamento, foi caracterizada pela equipe descritiva com menor intensidade de aroma e sabor de fresco (Valência 4). A amostra Pêra 3, que apresentou uma aceitação regular (6.56), apresentou intensidade de amargor e acidez elevada, indicando um provável efeito negativo desses atributos sobre a aceitação do suco de laranja.

Tabela 3: Valores médios de nota de aceitação dos sucos de laranja em diferentes períodos de vida de prateleira.

AMOSTRAS	Vida de Prateleira (0 dias)	Vida de Prateleira (60 dias)
NATAL1	6.50e,f,g,h	7.20 a,b
NATAL2	6.80b,c,d,e,f	6.93 a,b,c,d
NATAL3	7.23 a,b	7.00 a,b,c,d
NATAL4	7.07 a,b,c	6.40 f,g,h
PERA1	6.60 d,e,f	6.10 g,h,i
PERA2	7.37 a	7.00 a,b,c,d
PERA3	6.56 d,e,f,g	5.93 i
PERA4	6.56 c,d,e,f	5.87 i
VALÊNCIA1	6.50 e,f,g,h	7.00 a,b,c,d
VALÊNCIA2	7.16 a,b,c	7.40 a
VALÊNCIA3	6.40 f,g,h	6.07 h,i
VALÊNCIA4	5.90 i	5.90 i

N = 30 provadores

Médias na coluna e linha, com mesma letra, não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$)

Amostras codificadas como **1** e **2** representam a **primeira safra** estudada da respectiva variedade, sendo que as amostras com código 1 são provenientes de laranja de início da safra e 2 do fim da safra.

Amostras codificadas como **3** e **4** representam a **segunda safra** estudada, sendo que as amostras com código 3 são provenientes do início da safra e 4 do fim da safra.

Os provadores avaliaram também o que mais gostaram e o que menos gostaram nas amostras degustadas. Abaixo estão relacionados os atributos mais citados nas amostras no tempo zero dias e no tempo 60 dias após estocagem, para todas as amostras estudadas.

Em relação a variedade Natal foram citadas as seguintes frequências de comentários:

Natal 1 - No início da vida de prateleira, 27% dos provadores citaram o sabor de laranja característico como um fator positivo. A acidez intensa foi citada por 20% dos provadores. Após 60 dias, 17% dos provadores citaram o sabor característico de laranja como fator positivo e 17% citaram como negativa o sabor ácido.

Natal 2 - No início da vida de prateleira, 27% citaram o sabor característico de laranja e 16% e 13% respectivamente citaram o sabor cozido e ácido como fatores negativos. Após 60 dias, 17% citaram o sabor característico de laranja, 13% a doçura e como fator negativo, 7% citaram a acidez.

Natal 3 – No início da estocagem, 27% citaram o sabor de laranja e como fator negativo o sabor ácido foi mencionado por 24% dos provadores. Após 60 dias, 17% citaram o sabor característico de laranja e 14% a doçura adequada, e como fatores negativos, 24% citaram a acidez e 17 % sabor residual.

Natal 4 – No início da vida de prateleira, 37% dos provadores citaram o sabor característico de laranja e como fatores negativos, 17% citaram um sabor residual e 13% a acidez. Após 60 dias, somente 13% citaram o sabor característico de laranja e como fatores negativos 27% citaram o sabor de cozido e 7% citaram a acidez.

Pêra 1 – No início da vida de prateleira, 14% dos provadores citaram sabor característico de laranja, e como fatores negativos 20% citaram a acidez intensa, 13% sabor de cozido e 23% sabor amargo. Após 60 dias, 26% citaram o sabor ácido.

Pêra 2 – No início da vida de prateleira, 35% citaram o sabor característico de laranja, 23% citaram a acidez com ideal e como fator negativo, 6% citaram o sabor cozido. Após 60 dias, 7% citaram o sabor de cozido.

Pêra 3 - No início da vida de prateleira, 20% gostaram da cor e 80% citaram a acidez como fator negativo na amostra de suco e 13% citaram a presença de pontos brancos. Após 60 dias, 57% citaram a acidez intensa e 13 % citaram o amargor como fatores negativos.

Pêra 4 – No início da vida de prateleira, 20% dos provadores citaram o sabor característico de laranja, 30 % citaram sabor residual, 7% citaram o amargor e 7% sabor de passado. Após 60 dias, 40% dos provadores citaram sabor residual, 27% citaram sabor e aroma de passado.

Valência 1 - No início da vida de prateleira, 33% gostaram do sabor característico e 30% não gostaram da acidez do suco. Após 60 dias, 24% gostaram do sabor, 20% consideraram a doçura adequada e 20% consideraram a acidez intensa desagradável.

Valência 2 - No início da vida de prateleira, 33% ressaltaram o sabor de laranja, 17% encontraram um sabor residual. Após 60 dias de estocagem, 27% gostaram do sabor doce, 17% ressaltaram a cor e 10% citaram a acidez residual.

Valência 3 - No início da vida de prateleira, 37% dos provadores ressaltaram o sabor característico, 10% gostaram da doçura, 40% não gostaram do sabor ácido e 17% do sabor residual. Após 60 dias, 20% citaram a cor, sabor e doçura como fatores positivos, e 37% acharam a acidez intensa e 24% amargor.

Valência 4 - No início da vida de prateleira, 24% consideraram o sabor característico e 20% a acidez e cor como fatores positivos, 13% consideraram a doçura como agradável, e 14% ressaltaram o sabor de cozido como negativo. Após 60 dias, 20% acharam a doçura ideal e 14% perceberam o sabor de cozido

Em relação aos comentários feitos pelos provadores, podemos distinguir que a maior aceitação do suco de laranja depende de alguns fatores como sabor de laranja característico, sabor ácido moderado, sabor doce, ausência de aroma e sabor passado, cozido ou sabor residual.

Foi observada uma diminuição significativa da aceitação durante a vida de prateleira de 60 dias para algumas amostras. O suco de laranja Natal 4 apresentou uma diminuição de aceitação de 7.07 para 6.40 durante esse período, significativa ao nível de 5%. Essa amostra foi caracterizada no tempo 0 dias, pela equipe descritiva, com pouca intensidade de aroma e sabor de fresco. Os dados de análises químicas (capítulo III desta tese), indicaram que essa amostra apresentou a menor acidez titulável, comparativamente as demais amostras e menor quantidade de sólidos solúveis. Sabe-se que a presença do ácido cítrico é importante porque possui um efeito anti-oxidante, diminuindo as reações oxidativas indesejáveis em sucos de frutas.

A amostra de laranja Natal 1, que apresentou uma maior aceitação após 60 dias de vida de prateleira, teve como característica principal a elevada intensidade de sumo caracterizada pela equipe descritiva, no tempo zero. Essa característica associada a acidez percebida pelos provadores, fizeram com que a amostra obtivesse no início uma menor aceitação. Com o tempo de estocagem, existe uma tendência das amostras desenvolverem odores desagradáveis e diminuir a intensidade da sensação de sumo. Entretanto os atributos de aroma de fresco intenso no início da estocagem e aroma de sumo não tão excessivo, após 60 dias, favoreceram a aceitação do produto após o período de estocagem.

6. CONCLUSÕES

Avaliando-se os resultados Análise Descritiva Quantitativa (ADQ[®]) através da Análise de Componente Principal (ACP), verificou-se que as amostras caracterizaram-se em função de atributos sensoriais específicos como intensidade de acidez, doçura, frescor, conseqüentemente em função da época de colheita, mais do que em relação ao tipo de variedade ou safra.

As amostras de início de safra, em geral, caracterizam-se pelo aroma e sabor de fresco e aroma e sabor de sumo. As amostras de fim de safra caracterizaram-se pela intensidade de aroma e sabor de passado e cozido.

Pela análise estatística, foi verificada uma correlação significativa positiva entre os atributos de aroma e sabor de fresco, e aroma e sabor de sumo. Para os atributos de aroma e sabor de fresco e aroma e sabor de cozido foi verificada uma correlação significativa inversa.

Os testes afetivos indicaram que uma maior aceitação do suco de laranja pasteurizado relaciona-se diretamente ao aroma e sabor de fresco, balanço de acidez e doçura e pouca intensidade de cozido e passado. A acidez intensa pode ser considerada o fator de menor aceitação pelos provadores.

7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABECITRUS. Associação Brasileira dos exportadores de Cítricos. Disponível na internet <http://www.abecitrus.com.br/opina.html>. acessado em 14/04/2000.

AMERINE, M. A.; PANGBORN, R. M. AND ROESSLER, E. B. Principles of Sensory Evaluation of Food, In: *Food Science and Tecnology* , Academic Press, Inc., New York, 602 p., 1965.

BENASSI Jr., M. Determinação das curvas de maturação das variedades cítricas (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Pêra-Rio, Natal, Valência e Hamlin. Campinas, 2001. 137p. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP.

BETTINI, M. F. M. Estudo de aromas cítricos através de métodos sensoriais cromatográficos e espectroscópicos. São Carlos, 1995. 227p. Tese (Doutora em Ciências – Química Analítica). Instituto de Química, USP.

CIVILLE, G. V. AND SZCZESNIAK, A. S. Guideline to training a texture profile panel. *Journal of Texture Studies*, 4:204, 1973.

GROSS, J. Carotenoid pigments in citrus. In *Citrus Science and Technology*. Nagy,S; Shaw,P.E.; Veldhuis, M.K. The AVI publishing Company, Westport, Connecticut. v.1 cap.8, p.302-354, 1977

MacFIE, H. J. BRATCHELL,N.; GREENHOFF, K.; VALLIS, C.V. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over in hall testes. *Journal of Sensory Studies*, 4(2)129-148, 1989.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, V. ; CARR, B.T. Sensory Evaluation Techniques, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, 279p., 1988.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, V. & CARR, B. T. Sensory Evaluation Techniques, 2ND edition, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, 354p., 1991.

MOSKOWITZ, H. R. Product testing and sensory evaluation of foods: marketing and R & D Approaches, Westport:Food & Nutrition Press, 605p., 1983.

NAGY, S.; SHAW, P. E.; MORTON, I. D.; MACLED, A. R. Factors affecting the flavor of citrus fruits. In *Food flavors*. Part C. The flavor of fruits. Eds. Elsevier, New York, p.93-124., 1990.

NIESPEROS-CARRIEDO, M. O.; SHAW, P. E. Comparison of volatile flavor components in fresh and processed orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38:1048-1052, 1990.

RODRIGUEZ, O. Citricultura Brasileira. Campinas, SP : Fundação Cargill, 2 ed., v.1, 492p, 1991.

ROUSE, A. H. Pectin. Apud *Citrus Science and Technology*. Nagy, S; Shaw, P. E.; Veldhuis, M. K. The AVI publishing Company , Westport, Connecticut . v.1, chap.4:p.107-169, 1977.

SHAW, P. E.; WILSON, C. W. III. Importance of selected volatile components to natural orange, grapefruit, tangerine and mandarin flavors. In *Citrus Nutrition and Quality*; Nagy, S.; Attaway, J. A., Eds. ACS Symposium Series 143. American Chemical Society, Washington DC, p.167-170, 1980.

STONE, H.; SIDEL, J. L.; OLIVER, S.; WOOLSEY, A.; SINGLETON, R. C. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. *Food Technology*, 28(11), p.24-34, 1974.

STONE, H.; SIDEL, J. L. Quantitative descriptive analysis: developments, applications, and the future. *Food Technology*, 52(8) 48-52, 1998.

TING, S. V.; ATTAWAY, J. A. Citrus fruits. In: HULME, A.C. *The Biochemistry of Fruits and their products*. London: Academic Press, v.2., chap.3:p.107-169, 1971.

WOLFORD, R. W.; ATTAWAY, J. A.; ALBERDING, B.; ATKINS, C. D. Analysis of the flavor and aroma constituents of Florida orange juices by gas chromatography. *Journal of Food Science*, 26:320-329, 1963.

CAPÍTULO III

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ACEITAÇÃO SENSORIAL DO SUCO DE LARANJA(*Citrus sinensis* L. OSBECK) PASTEURIZADO OBTIDO DE DIFERENTES VARIEDADES DE FRUTAS CÍTRICAS.

“Para que a pesquisa cumpra seu papel, ela não deve somar conhecimentos, mas multiplicá-los. Se isto não acontecer, ela terá sido perda de tempo”

Ruth Rocha

1. RESUMO

Amostras de suco de laranja pasteurizado foram processadas utilizando três variedades de laranja (*Citrus sinensis* osbeck), Pêra, Valência e Natal. Essas variedades são as mais produzidas no Estado de São Paulo (Brasil) e também as que apresentam maior rendimento em suco na extração. As amostras das frutas foram padronizadas quanto ao local de colheita e selecionadas em regiões específicas de uma plantação para colheita no início e fim da safra e em duas safras consecutivas. Após a colheita as amostras foram processadas para obtenção do suco pasteurizado, que foi acondicionado em embalagem cartonada (Tetra Pak). Foram feitas análises das características químicas e físico-químicas. As amostras também foram analisadas quanto a aceitação sensorial por consumidores potenciais de suco laranja.

Dentre as variáveis estudadas, as que apresentaram maior correlação com o nível de aceitação do suco de laranja foram: o teor de sólidos solúveis, acidez titulável, relação sólidos solúveis e acidez titulável ou “ratio” e o teor de limonin.

Valores de “ratio” elevado (acima de 16) podem causar uma diminuição da aceitabilidade do suco em função da percepção de passado e cozido que podem se desenvolver no produto após a pasteurização e durante a vida de prateleira.

Foi encontrada diferença significativa nos valores de acidez, de início e fim de safra, para as variedades estudadas. A acidez do suco afeta significativamente a qualidade sensorial do produto, diminuindo a aceitação do produto.

Os valores encontrados de ácido ascórbico nos sucos produzidos a partir das frutas de início de safra foram significativamente superiores as do suco provenientes da fruta de fim de safra para todas as variedades. Independente da concentração inicial de ácido ascórbico, os teores tendem a diminuir durante a vida de prateleira do produto, podendo diminuir de 5 a 15% após 60 dias de estocagem.

Em relação as variáveis relacionadas aos índices de cor, foi encontrada grande variabilidade entre as amostras (variedades) e entre as safras, indicando que a coloração do suco é de difícil padronização. Para quase todas as amostras, os valores de a_{Hunter} (vermelho) aumentaram durante a vida de prateleira e os valores de L_{Hunter} (luminosidade) e b_{Hunter} (amarelo) diminuíram, indicando uma provável reação de escurecimento nos sucos durante o período de armazenamento.

2. ABSTRACT

Pasteurized orange juice samples were processed using three varieties of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck), Pera, Valencia and Natal. These varieties are produced in the State of São Paulo (Brasil) and are those that present the greatest yields in juice during extraction. The samples of fruit were standardized as to the place of harvest, and thus specific regions of the plantation were designated at the beginning and end of the harvest for two consecutive harvests. After harvest, the samples were processed to obtain the pasteurized juice, which was packed in cartons (Tetra Pak). The chemical and physico-chemical characteristics were determined. Potential orange juice consumers also analyzed the samples for sensory acceptance.

Of the variables studied, those that presented greater correlation with the level of acceptance of the orange juice were: the soluble solids content as Brix, the acidity, Ratio and the limonin content.

High values for Ratio (above 16) can cause a reduction in the acceptability of the juice as a function of the perception of over-ripe and cooked, which develop in the pasteurized product during the shelf life.

A significant difference was found in the values for acidity at the beginning and end of harvest for the varieties studied. The acidity of the juice significantly affects the sensory quality of the product, diminishing the acceptance of the product.

The values found for ascorbic acid in the juices produced at the beginning of harvest were significantly higher than those from juice extracted at the end of the harvest for all varieties. Independent of the initial concentration of ascorbic acid, the contents tend to decrease during the shelf life of the product, decreasing from 5 to 15% after 60 days of storage.

With respect to the variables related to the color indexes, great variability was found between samples (varieties) and between harvests, indicating that the color of the juice is difficult to standardize. For almost all the samples, the values for a_{Hunter} (red)

increased during the shelf life and the values for L_{Hunter} (luminosity) and b_{Hunter} (yellow) decreased, indicating a probable browning reaction of the juices during the storage period.

3. INTRODUÇÃO

3.1. CITRICULTURA COMO AGRONEGÓCIO

No setor agro-industrial, a indústria de sucos de frutas é uma das maiores em todo o mundo. Nesse mercado, o suco de laranja é o produto de maior destaque, seguido pelos sucos de maçã, uva, abacaxi e outros cítricos.

Segundo a FAO (1999), em todo o mundo, na safra de 96/97 foram produzidas 51.048.000 toneladas de laranja, sendo processadas para produção de suco, 22.475.000 toneladas, representando 44% desse volume. O Brasil produziu 16.360.000 (32%) toneladas, processando na indústria, 10.608.000 (20.7%). Os Estados Unidos da América produziram 11.992.3000 (23.4%) toneladas e processaram 9.150.000 (17,9%).

O Estado de São Paulo tem a maior área de produção de laranja do país e produziu na safra de 98/99, 298.9 milhões de caixas de 40.8 Kg. Os outros estados do Brasil produziram 50 milhões de caixas. A indústria paulista processou 203 milhões (67.9%) de caixas, e o mercado interno de frutas frescas consumiu 95.0 (31.7% milhões de caixas de 40.8 Kg (ABECITRUS, 2000).

No Brasil, a produção de suco de laranja originou-se e se desenvolveu voltada para o mercado externo, principalmente EUA, Europa e outros países de economia desenvolvida. Grande parte dessa produção destina-se a obtenção do suco em sua forma concentrada congelada. De maneira geral, o consumo doméstico interno de suco de laranja concentrado congelado é baixo em relação ao observado no mercado internacional. Acreditava-se que era devido à disponibilidade de fruta fresca durante o ano inteiro, e assim, o suco produzido era quase todo exportado.

A indústria de suco sempre deu pouca atenção ao mercado interno e, apesar da existência de fruta fresca ao longo do ano, os consumidores possuíam o hábito de extrair o

suco em suas próprias residências, por motivos de conveniência e praticidade do processo de extração (Nisida *et al*, 1993 e Souza, 1997).

A partir do início dos anos 90, o mercado de suco de laranja começou a apresentar mudanças. O surgimento de novas formas de comercialização do produto, a tendência de auto-suficiência e competitividade dos norte-americanos e a implantação de um programa de estabilidade econômica do país, elevando o poder de compra da população, fizeram crescer o consumo de suco de laranja industrializado no Brasil.

O aumento do interesse pelo suco de laranja integral, também se deve, em parte, pelo hábito moderno em consumir produtos naturais, fazendo com que o consumidor substitua as bebidas artificiais industrializadas, como refrigerantes, pelos sucos naturais (Anon, 1996).

Uma das formas de comercialização são os sucos prontos para beber, pasteurizados e comercializados sob refrigeração, um dos segmentos que desperta grande interesse dos fabricantes de sucos, que acreditam ser este um mercado promissor, devido a tendência do consumidor moderno em preferir o alimento refrigerado. Alimentos refrigerados são submetidos a processamentos térmicos brandos, fazendo com que suas características organolépticas sejam mais próximas as do produto fresco, uma vez que o mercado brasileiro tem uma alta exigência com relação ao sabor/odor natural dos sucos cítricos e geralmente detecta alterações no suco submetido a processamentos térmicos rigorosos (Anon, 1996).

Existe um outro segmento que são os sucos prontos para beber, envasados em embalagem cartonada, comercializados à temperatura ambiente. No entanto, este produto apresenta maiores alterações em suas características organolépticas, quando comparado às alterações químicas e sensoriais dos sucos refrigerados.

A estabilidade química e sensorial do suco de laranja armazenado a temperatura ambiente é um desafio a ser superado, uma vez que o produto, apresenta um custo menor de comercialização, quando comparado ao produto refrigerado, atraindo um maior número de consumidores.

3.2. HISTÓRICO

A produção comercial significativa de laranja para processamento de suco foi iniciada na Flórida na década de 20. Na década de 30, o valor da vitamina C no suco cítrico ganhou publicidade e a demanda de produtos cítricos aumentou. O desenvolvimento do suco concentrado na década de 40 foi considerado o mais importante passo no crescimento da indústria de processamento da laranja. Desde a primeira comercialização de suco concentrado em 1945-46, estas vendas tiveram um rápido crescimento, excedendo todos os outros produtos cítricos (Hasse, 1987).

Por volta de 1962, devido as constantes geadas na Flórida, região onde se produzia a laranja para a industrialização, ocorreram quedas na safra, pela destruição de muitos pomares. Nesta fase, a primeira planta nacional para processar suco concentrado, usando a tecnologia da Flórida, foi construída na cidade de Araraquara – SP, no ano de 1963. Tendo encontrado condições favoráveis, as indústrias de processamento de citrus expandiram rapidamente no Brasil. Nos anos de 1983-94, a produção de laranja industrial no país ultrapassou a dos EUA, tornando-se o país líder na produção de laranja industrial (Hasse, 1987 e Onofre, 1995).

A inovação do sistema de transporte e estocagem dos grandes volumes, tanto nos terminais para a exportação quanto para importação, viabilizou o transporte em navios transcontinentais, agilizando a exportação do suco de laranja. Atualmente, o Brasil é responsável por aproximadamente 80% das exportações mundiais de suco concentrado e, juntamente com os EUA, respondem por 90% do volume total produzido no mundo, o que coloca a indústria de produtos cítricos numa posição de destaque na economia nacional e mundial (Onofre, 1995).

No Brasil a concentração da citricultura está no estado de São Paulo e deve-se as condições climáticas e edáficas favoráveis, fatores culturais e bom suporte tecnológico agrícola industrial (Donadio *et al*, 1995)

A espécie *citrus* mais explorada no Brasil, tanto para consumo da fruta fresca como para a industrialização é a *citrus sinensis* (L) Osbek, que pode ser denominada como Laranja Doce e subdividida em 4 grupos importantes: Laranja Comum; Laranja Navel; Laranja sem acidez; e Laranja Vermelha ou pigmentada. Em relação a esses 4 grupos, o de maior destaque é o da Laranja Comum que representa aproximadamente 66% das Laranjas Doce plantadas. As principais Laranjas Comuns comercialmente importantes são a Valência e a Pêra, que representam 10% e 50% respectivamente das variedades de importância comercial.

A laranja Pêra é a principal variedade cítrica produzida no Brasil (Donadio *et al.*, 1995; Rodriguez *et al.*, 1991). O suco representa 52% do peso do fruto, e apresenta valores médio de sólidos solúveis de 11.8%, acidez titulável 0.95% e 'ratio' 12.5. Essa variedade é tipicamente brasileira e representa 52% do total, relativo às laranjas plantadas no estado de São Paulo.

3.3. SUCO DE LARANJA

Seguindo os padrões de Identidade e Qualidade estabelecidos pelo Ministério da Agricultura (1974), o suco de laranja é caracterizado conforme descrito.

Por definição, o suco de laranja é um líquido límpido ou turvo, extraído do fruto da laranjeira (*Citrus sinensis*), através de processo tecnológico adequado, não fermentado, de cor aroma e sabor característicos, submetido a tratamento que assegura a sua apresentação e comercialização até o momento do consumo. Tal designação é para o suco apresentado na sua concentração e composição natural.

As características gerais do produto incluem: preparo com frutas frescas, maduras, sãs, desprovidas de terra, sujidades, parasitas e microrganismos que possam tornar o suco impróprio para consumo humano, bem como apresentar as características organolépticas da laranja. As características químicas e físicas do suco de laranja deverão obedecer os limites especificados na Tabela 1.

Segundo Tocchini (1997), a Coordenação de Inspeção Vegetal do Ministério da Agricultura e Abastecimento, resolveu dispensar, temporariamente, a exigência relacionada a sólidos solúveis mínimo, para suco resfriado não-pasteurizado e resolveu adotar o valor mínimo de 27 mg/100 ml para ácido ascórbico e o máximo de 10% em volume para sólidos em suspensão, no produto pasteurizado. Esta decisão surgiu em virtude do crescimento do mercado interno de suco de laranja pronto para beber e de muitos fabricantes que verificaram que seus produtos não atendiam aos Padrões de Identidade e Qualidade previstos na Portaria 371/74, por razões envolvendo problemas de entressafra (°Brix), condições de comercialização (ácido ascórbico) e de preferência do consumidor (Sólidos em suspensão).

As características microbiológicas, conforme consulta ao laboratório de análises microbiológicas do Ministério da Agricultura em São Paulo, devem seguir os padrões aprovados na Portaria n. 451/97 do Ministério da Saúde (1997) para os sucos e refrescos in natura:

- Salmonelas: ausência em 25 ml
- Bactérias do grupo coliforme de origem fecal: NMP, máximo, 10/ml
- Bolores e leveduras: máximo, 10^4 / ml.

A qualidade do suco de laranja é influenciada basicamente por fatores microbiológicos, enzimáticos e químicos, que comprometem suas características organolépticas (aroma, sabor, cor, consistência, estabilidade e turbidez separação de fases sólido/líquido) e nutricionais (vitaminas) (Graulinch *et al*, 1986).

Tabela 1: Características químicas e físicas do suco de laranja.

Parâmetros	Limites		Unidades
	mínimo	máximo	
Densidade relativa a 20/20°C	1,042	—	
Sólidos solúveis, a 20°C	10,5	—	°Brix
Relação °Brix/acidez	9,0	20	g/% de ácido cítrico
Sólidos em suspensão	—	7	% (v/v)
Álcool etílico	—	0,5	graus GL
Açúcares totais naturais da laranja	—	13,0	g/100ml
Ácido Ascórbico	38,0	—	mg/100ml
Óleo essencial	—	0,03	% (v/v)

Fonte: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA (1974)

A qualidade do fruto aumenta com sua maturação. O sabor é um dos principais fatores de qualidade, mas outros atributos como aroma, textura e cor contribuem também para a qualidade total do fruto. O sabor do fruto e do suco, podem ser afetados, tanto pelo fruto imaturo, quanto pelo fruto de maturação passada. Quando a fruta atinge uma determinada relação entre sólidos solúveis e acidez (“ratio”), o sabor e características do fruto não maduro desaparecem (Nagy *et al.*, 1980; Bettini, 1995).

A curva de maturação dos frutos se processa de forma complexa, onde interagem as temperaturas do ar, radiação solar, água disponível nas raízes, além de fatores locais de relevo, como localização geográfica, face de exposição solar e características varietais. O amadurecimento dos frutos cítricos é caracterizado pelo aumento gradual de suco, decréscimo no teor de acidez, aumento na quantidade de sólidos solúveis (principalmente os açúcares) no suco, desenvolvimento de cor, aroma e sabor próprios a cada variedade, e a relação entre a quantidade de sólidos solúveis e ácidos (Nagy *et al.*, 1990).

Os conhecimentos sobre as variedades de laranja para produção de suco, são interessantes não só no aspecto de rendimento em suco, como também na qualidade química e sensorial do suco final (Kimball, 1991). Dentre as variedades de laranja comercialmente importantes no Brasil destacam-se as variedades Pêra e Valência que representam 50% e 10% respectivamente do total de variedades comercializadas (Donadio *et al.*, 1995).

3.3.1. Tipos de Suco

Suco Concentrado de Laranja

O suco concentrado congelado de laranja ou “FCOJ – Frozen Concentrate Orange Juice” foi desenvolvido por pesquisadores da Flórida no “USDA Laboratory”, no meio da década de 40. Diferentes tipos de evaporadores podem ser utilizados para concentração de sucos, entretanto, para suco de laranja, o processo mais utilizado é a evaporação de multi-efeito, em alta temperatura e curto tempo TASTE (*Thermally Accelerate Short Term Evaporator*). O produto é concentrado à 65°Brix e acondicionado em tambores, com revestimento duplo de sacos plásticos de polietileno, ou são acondicionados em “Tank Farms”, e posteriormente armazenados a temperatura iguais ou inferiores a - 18°C (Buslig, 1990).

Sucos Integrais de Laranja

Nesta categoria encontramos diferentes classificações: suco resfriado, suco fresco, suco pasteurizado resfriado e suco pasteurizado armazenado a temperatura ambiente. Basicamente eles se diferenciam por serem ou não obtidos do suco concentrado e por serem ou não submetidos a algum tipo de tratamento térmico.

O suco de laranja resfriado ou “Chilled Orange Juice” é produzido a partir do suco fresco ou do suco concentrado reconstituído e armazenado sob refrigeração, em embalagens de plástico, garrafas de vidro ou cartonadas, podendo ser pasteurizado ou não (Buslig, 1990).

O suco de laranja NFC (*Not From Concentrate*) industrializado apresenta grande variação durante o ano pela oferta de diferentes variedades de laranja com características químicas e sensoriais próprias, sendo assim, é comum a indústria cítrica utilizar “*blends*” ou misturas de diferentes variedades durante a safra para alcançar um balanço Brix/Acidez favorável sensorialmente, entretanto o conhecimento individual de cada variedade faz-se necessário para estabelecer a contribuição individual de aromas e características químicas de cada variedade (St Pao *et al.*, 1996). A padronização sensorial da qualidade do suco de laranja integral processado assepticamente ao longo do ano é um dos desafios da indústria de suco.

Vários autores estudaram as características químicas, sensoriais e componentes voláteis presentes em suco de laranja obtidos de diferentes variedades. As características individuais de cada variedade são fatores de grande importância devido a sua contribuição na qualidade final do suco pasteurizado (Wolford *et al.*, 1963; Shaw & Wilson, 1980; Kimbal, 1991; Bettini, 1995; Benassi Jr., 2001).

3.4. ESTUDOS SOBRE ALTERAÇÕES DO SUCO

Para produzir um suco de laranja com qualidade, o processo deve contemplar qualidades nutricionais e sensoriais. O suco de laranja processado e armazenado, como muitos outros produtos, pode sofrer variações bruscas de temperatura durante a estocagem, estando susceptível a reações químicas que causam variações de cor, sabor, odor e diminuição da qualidade nutricional (Kaanane *et al.*, 1988)

O uso de processo asséptico em produtos cítricos favorece a produção de um suco de laranja com maior qualidade tanto em relação aos aspectos nutricionais como sensoriais (Kaanane *et al.*, 1988). Condições de processamento e estocagem são os principais fatores que afetam a retenção de vitamina C e formação de escurecimento não enzimático e diminuem o valor comercial de produtos cítricos como laranja e grapefruit. (Rassis & Saguy, 1995; Kaanane *et al.*, 1988; Lee & Nagy, 1988a; Marcy *et al.*, 1989; Saguy *et al.*, 1978a, 1978 b).

Novas tecnologias tem sido sugeridas para minimizar o efeito da temperatura na qualidade do suco de laranja. Uso de corrente elétrica pulsada e alta pressão (Hoover, 1997; Goodner *et al.*, 1999) tem sido estudadas como tecnologias alternativas, entretanto apresentam ainda um custo razoável para serem implantadas.

De um modo geral, a avaliação da vida de prateleira do suco de laranja pode ser feita analisando-se as alterações na cor, sabor, aroma e da vitamina C ao longo do tempo de estocagem além de sua condição microbiológica. Estes fatores de qualidade são afetados pelo tempo de estocagem do suco, embalagem utilizada (que permite ou não a entrada de luz e trocas de gases) e temperatura de estocagem (sob refrigeração ou ambiente). A luz e a temperatura são fatores que influem na degradação da vitamina C, além da presença de oxigênio e de íons metálicos tais como cobre, níquel e ferro, que catalisam a degradação por oxidação.

Em seus estudos sobre amargor em *citrus*, Maier & Beverly citados por Pollard & Timberlake (1971) mostraram que o amargor desenvolvido em laranja Navel no início da safra, é resultado de trocas secundárias que ocorrem após extração do suco. O problema é causado pela excessiva maceração dos tecidos feitas durante a extração do suco, processo que deve ser bem controlado.

Lafuente *et al.* (1978) estudaram as alterações sensoriais e de cor, teor de limonin, intensidade de sabor amargo, equilíbrio da relação açúcar/ácido e nível de aceitação de 5 variedades de laranja de interesse comercial na Espanha. Foram preparados sucos a partir de diferentes variedades (Salustiana, Comuna, Cadenera, Verna e Valência). Os resultados mostraram que os sucos das variedades tardias (Verna e Valência)

apresentaram melhor qualidade sensorial que as variedades de meia estação (Comuna e Cadenera) e temporonas (Salustiana). A variedade Salustiana produz intenso sabor amargo, que pode variar durante a safra. Algumas variedades apresentaram sabor amargo menos intenso, que desapareceram a índices de maturação inferiores (8,5° Brix). Para todas as variedades o suco apresentou um sabor e paladar agradável quando a razão °Brix/Acidez foi 10 ou superior a este valor.

Wolford *et al.* (1963) estudaram a composição do suco fresco de diferentes variedades (Hamlin, Pineapple e Valência) e observaram diferenças dentro da própria variedade no início e fim de safra. Para a variedade Hamlin alguns compostos voláteis (etil butirato, n-hexanal, 3-hexanal) aumentaram sua concentração ao longo da safra e outros, n-octanal, linalol, 1-octanol e neral), diminuíram do meio para o fim da safra. Para a variedade Valência foi observado no decorrer da safra uma elevação da concentração de etil butirato, n-hexanal, n-octanal e pequeno aumento de 1-hexanol, 3-hexanol, linalol e 1-octanol. Para a variedade Pineapple houve redução de alguns terpenos como d-limoneno e β -mirceno.

Mannheim (1985) em seus estudos sobre qualidade sensorial de suco processado assepticamente reportaram que o suco estocado a 15°C manteve boa qualidade de flavor por 4 meses. Lafuente *et al.* (1979) encontraram uma diminuição do flavor e aceitação sensorial após duas semanas de estocagem a temperatura ambiente. Carlson (1983) relatou que a maioria dos sucos de laranja que foram processados assepticamente apresentaram uma vida de prateleira máxima de 4 meses.

Graumlich *et al.* (1986) em sua revisão sobre suco de laranja assepticamente embalado, mostraram diversos trabalhos sugerindo que alterações químicas durante a vida de prateleira influenciam na qualidade nutricional (diminuição da vitamina C), cor principalmente escurecimento não enzimático do suco) e aceitação sensorial. Esses são fatores limitantes que determinam a vida de prateleira destes tipos de sucos.

Maillard e outras reações não enzimáticas que ocorrem durante o processamento e estocagem de produtos alimentícios foram relacionadas a deterioração da cor (escurecimento), aroma e sabor do suco de laranja (Albalá-Hurtado *et al.*, 1999;

Handwerk & Coleman, 1988; Meydav & Berk, 1978; Shaw *et al.*, 1977; Tatum *et al.*, 1975).

Vários autores investigaram os produtos de degradação do ácido ascórbico em condições anaeróbicas (Smoot & Nagy, 1980; Robertson & Samaniego, 1986; Rodriguez *et al.*, 1991). Os resultados indicaram que, sob condições anaeróbicas, o ácido ascórbico degrada-se para furfural predominantemente e não em ácido dehidroascórbico.

Yuan & Chen (1998) estudaram a degradação do ácido ascórbico em soluções aquosas em diferentes valores de pH. As soluções foram aquecidas a 100°C por 2 horas e os quatro principais produtos de degradação foram identificados por Cromatografia Líquida. Sob condições anaeróbicas o principal produto de degradação encontrado foi o furfural. Baixos valores de pH favoreceram a formação de furfural, sendo que em pH extremamente baixo (pH = 1,0), o furfural foi o produto dominante. Os autores sugeriram que em soluções aquosas, meio ácido e condições anaeróbicas, o furfural é o principal produto de degradação do ácido ascórbico.

Solomon & Svanberg (1995) estudaram o efeito do oxigênio e luz fluorescente na qualidade do suco de laranja reconstituído, pasteurizado e acondicionado em diferentes embalagens (embalagem cartonada, polietileno de baixa e alta transparência e vidro) e estocado a 8°C. Esses parâmetros foram relacionados ao teor de vitamina C (ácido ascórbico e ácido dehidroascórbico), escurecimento não enzimático e formação de Furfural e Hidroximetilfurfural (HMF) durante estocagem do suco por 52 dias. Os níveis de oxigênio dissolvido aumentaram em algumas embalagens, durante o tempo de estocagem e foram relacionados significativamente com a degradação do ácido ascórbico e escurecimento do suco estocado. A embalagem cartonada foi a que apresentou maior permeabilidade ao oxigênio. A luz não teve um efeito significativo nestas variáveis. O conteúdo de Furfural aumentou lentamente em todas as embalagens e condições estudadas.

Satar *et al.* (1989) encontraram efeito significativo da luz fluorescente na degradação do ácido ascórbico e na avaliação sensorial de bebida de laranja estocada a temperatura ambiente (25-30°C) por 32 dias.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL

Foram utilizadas laranjas das variedades Natal, Pêra-Rio e Valência, provenientes de uma fazenda na cidade de Santa Cruz do Rio Pardo da região centro-oeste do Estado de São Paulo. As amostras foram previamente selecionadas quanto a zona e talhão de plantio e foram feitas colheitas no início e fim de safra de cada variedade, em duas safras consecutivas (98/99 e 99/2000). As amostras de laranja foram processadas para produção do suco pasteurizado, em uma planta industrial localizada no mesmo local de obtenção da matéria prima.

As variedades de laranja Natal, Pêra e Valência foram colhidas para processamento, no início e fim de safra durante duas safras consecutivas. Os sucos obtidos dessas variedades foram caracterizados química e sensorialmente. Para o estudo de vida de prateleira, o suco foi armazenado a temperatura ambiente e foram feitas análises nos tempos, 0, 15, 30, 45 e 60 dias.

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Etapas do Processamento

A Figura 1 apresenta as etapas do processamento para obtenção do suco de laranja pasteurizado.

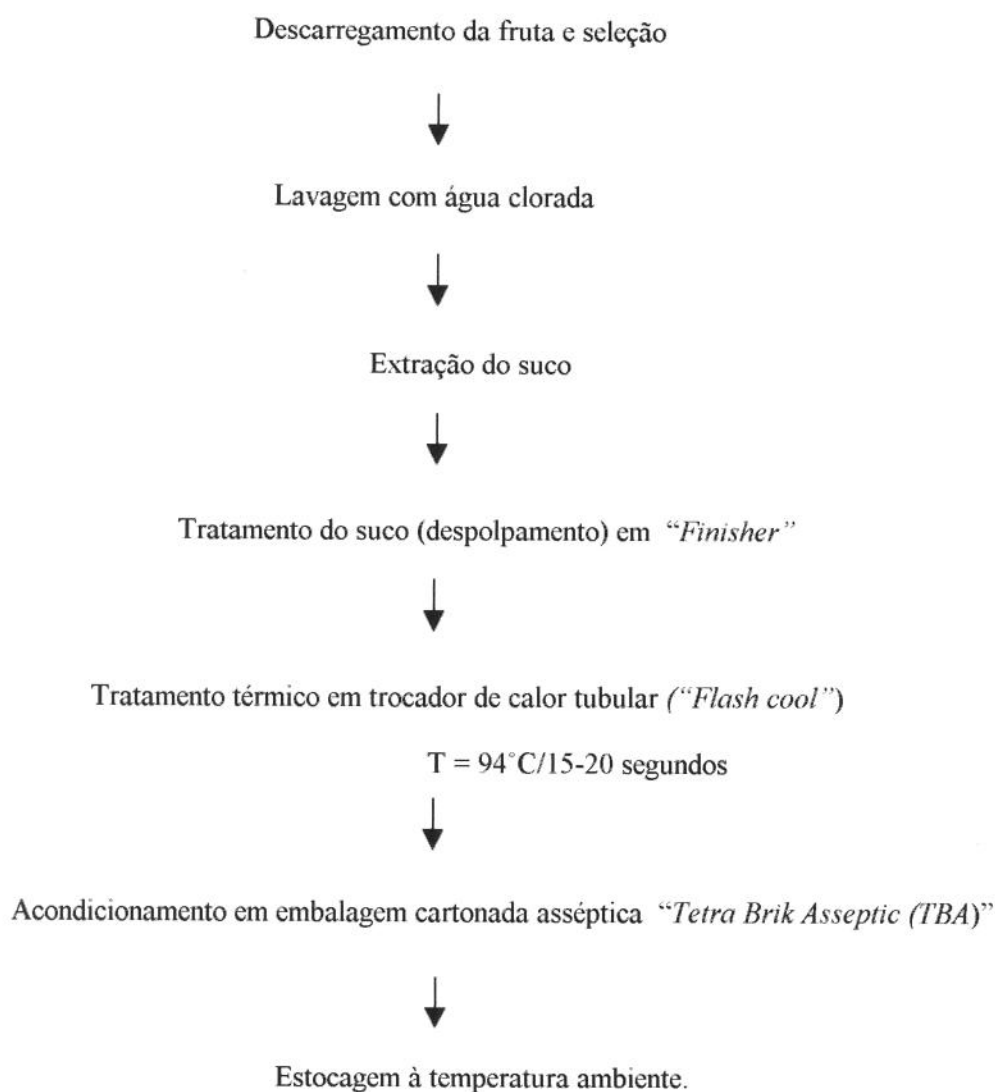


Figura 1: Fluxograma de processamento do suco de laranja pasteurizado acondicionado em embalagem cartonada.

4.2.2. Ácido ascórbico: Segundo método por titulação utilizando-se 2,6-diclorofenol indofenol da AOAC (1984), modificado por Benassi (1989).

4.2.3. Análise Instrumental de Cor: Foi utilizado espectrofotômetro modelo Color Quest II marca Hunter Lab. O método de calibração utilizado foi de refletância especular incluída (RSIN), com padrão de calibração branco (C 6299 Hunter Color Standard). O sistema de cor é Hunter Lab com iluminante D65 e ângulo observador 10°. As leituras foram feitas usando Cubeta de vidro opticamente limpo de 20 mm. Foram determinados os valores de L_{Hunter} (Luminosidade), a_{Hunter} (intensidade de vermelho) e b_{Hunter} (intensidade de amarelo).

4.2.4. Análise de Sólidos Solúveis(°Brix): Feito por leitura direta em refratômetro Carl Zeiss, modelo 32G 110d. (Jena).

4.2.5. Análise de Acidez Titulável: Segundo método da AOAC 1990 n. 22058.

4.2.6. Relação Sólidos Solúveis(°Brix) / Acidez = *Ratio*

A relação Sólidos solúveis e Acidez titulável é usada para indicar o equilíbrio doce ácido de bebidas não alcoólicas, de frutas, sucos, sendo uma avaliação de qualidade.

4.2.7. Determinação de pH: Foram feitas leituras diretas em pHmetro Micronal B374.

4.2.8. Análise Sensorial de Aceitação (Teste Afetivo): Foi realizado teste de aceitação, segundo método descrito em Stone & Sidel (1993). Foram recrutados 30 provadores, consumidores de suco de laranja, para avaliação sensorial de aceitação das amostras. As amostras foram servidas em béqueres de vidro de 50 mL, sendo o volume de amostra de 25 mL.

Os provadores avaliaram as amostras utilizando uma escala hedônica estruturada de 9 (nove) pontos, ancoradas nos extremos nos termos “desgostei muitíssimo”(1) e “gostei muitíssimo”(9). Os provadores também foram solicitados a descrever o que mais gostaram e o que menos gostaram na amostra. (Figura 2).

Nome: _____ Data: _____

1) Por favor, prove a amostra codificada de suco de laranja e use a escala abaixo(faça um X no número), para indicar o quanto você gostou ou desgostou da amostra

AMOSTRA: _____

9 – gostei muitíssimo

8 - gostei muito

7 – gostei moderadamente

6 – gostei ligeiramente

5 – nem gostei/nem desgostei

4 – desgostei ligeiramente

3 – desgostei moderadamente

2 – desgostei muito

1 – desgostei muitíssimo

2) Agora, por favor, comente o que você mais gostou e o que menos gostou da amostra:

Mais gostou : _____

Menos gostou : _____

Figura 2: Ficha de avaliação sensorial do teste afetivo.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De maneira geral, os resultados obtidos indicaram a variabilidade de valores de sólidos solúveis e acidez que podemos encontrar entre variedades diferentes, durante a safra e entre safras (Tabela 1). A relação entre sólidos solúveis e acidez titulável (“ratio”) é o índice mais utilizado para indicar o grau de maturação das frutas cítricas. Os valores de “ratio” aumentaram durante a safra, variando de 10.50, menor valor encontrado no início de safra para 17.30, maior valor encontrado de fim de safra. Essa variabilidade, entretanto, pode encontrar valores adversos de sólidos solúveis e acidez. As amostras de Natal 2 e Natal 4 apresentaram valores de “Ratio” próximos a 14.50, entretanto seus valores de sólidos solúveis e acidez são completamente distintos. Isso demonstra que os valores de “ratio” devem ser usados com critério no momento de se indicar o grau de maturação para processar um suco de laranja.

Tabela 2: Valores* de Sólidos Solúveis(°Brix), Acidez e Relação Sólidos Solúveis e Acidez (*Ratio*) para as amostras de suco obtido das diferentes variedades de laranja.

Amostras de suco(**)	Sólidos solúveis (°Brix)	Acidez titulável (g/100mL)	"Ratio" (S.S/Acidez)
Natal 1(Dez98)	12.10	0.93	12.96
Natal 2(Fev99)	11.93	0.83	14.43
Natal 3(Dez99)	12.10	0.97	12.86
Natal 4(Mar00)	10.96	0.75	14.60
Pêra 1(Jul99)	11.33	0.94	12.10
Pêra 2(Set99)	11.50	0.77	14.90
Pêra 3(Jul00)	12.36	1.17	10.50
Pêra 4(Set00)	13.02	0.75	17.30
Valência 1(Nov99)	12.93	0.98	13.20
Valência 2(Jan00)	11.43	0.82	14.00
Valência 3(Nov00)	12.60	1.01	12.50
Valência 4(Fev01)	11.10	0.74	15.00

(*) Valores médios de 3 determinações analíticas.

(**)A data dentro do parênteses indica o mês e ano da colheita da laranja e processamento do suco.

5.1. ÁCIDO ASCÓRBICO

Os valores de ácido ascórbico encontrados nas amostras de suco das diferentes variedades estão representados nas Figuras 3, 4 e 5. As amostras foram estocadas por 60 dias, com exceção de uma das amostras de laranja Valência que foi estocada por um período de 80 dias.

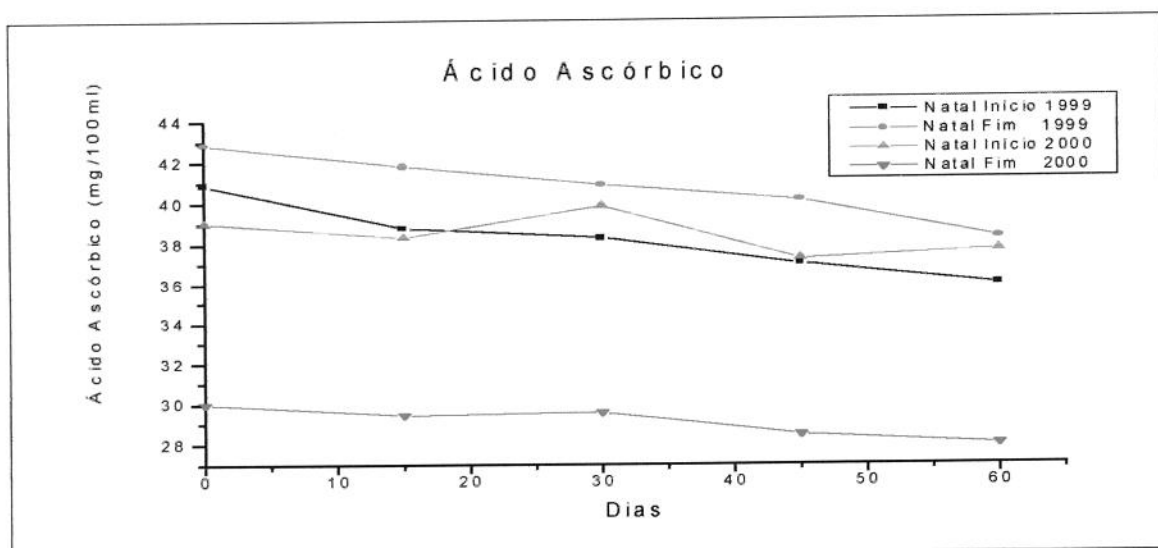


Figura 3: Conteúdo de ácido ascórbico no suco de laranja obtido da variedade Natal.

A Figura 3 apresenta as de curvas conteúdo do ácido ascórbico durante a estocagem do suco produzido a partir da variedade Natal. Os resultados mostram que a variabilidade do conteúdo do ácido ascórbico foi significativa entre as diferentes épocas de maturação.

Independente da concentração inicial de ácido ascórbico, os teores tendem a diminuir durante a vida de prateleira do produto, podendo variar de 5 a 15% após 60 dias de estocagem.

Esses resultados são superiores ao encontrados por Bisset & Berry (1975), em estudos de suco de laranja acondicionado em garrafas de vidro, polietileno de alta densidade, poliestireno de alto impacto e cartonada. Sucos de laranja em lata e em garrafas de vidro apresentaram retenção de 75% de vitamina C após estocagem de um ano a temperatura ambiente. Suco de laranja pasteurizado embalado em garrafas de vidro apresentaram retenção de 67% de ac. ascórbico após 8 meses de estocagem a 26°C, entretanto após esse período tornaram-se inaceitáveis devido a alterações de flavor e cor.

Assim como a acidez e sólidos solúveis, o teor de ácido ascórbico na fruta também é influenciado pela maturação da planta. Em nossos estudos, os valores de ácido ascórbico variaram de forma significativa entre as amostras estudadas. Pelas Figuras 3, 4 e 5 observa-se que as amostras de início de safra, para as três variedades, apresentaram maiores valores de ácido ascórbico que as amostras de fim de safra. Essa tendência da laranja de início de safra apresentar maior teor de ácido ascórbico já foi observada por outros autores (Kimball, 1991; Benassi Jr., 2001) e em frutas ricas em vitamina C como a acerola. Todas as amostras de suco apresentaram uma diminuição significativa no teor de ácido ascórbico durante a vida de prateleira, sendo que as perdas de ácido ascórbico variaram de 5 a 15%.

Assim como a acidez e sólidos solúveis, o teor de ácido ascórbico na fruta também é influenciado pela maturação da fruta.

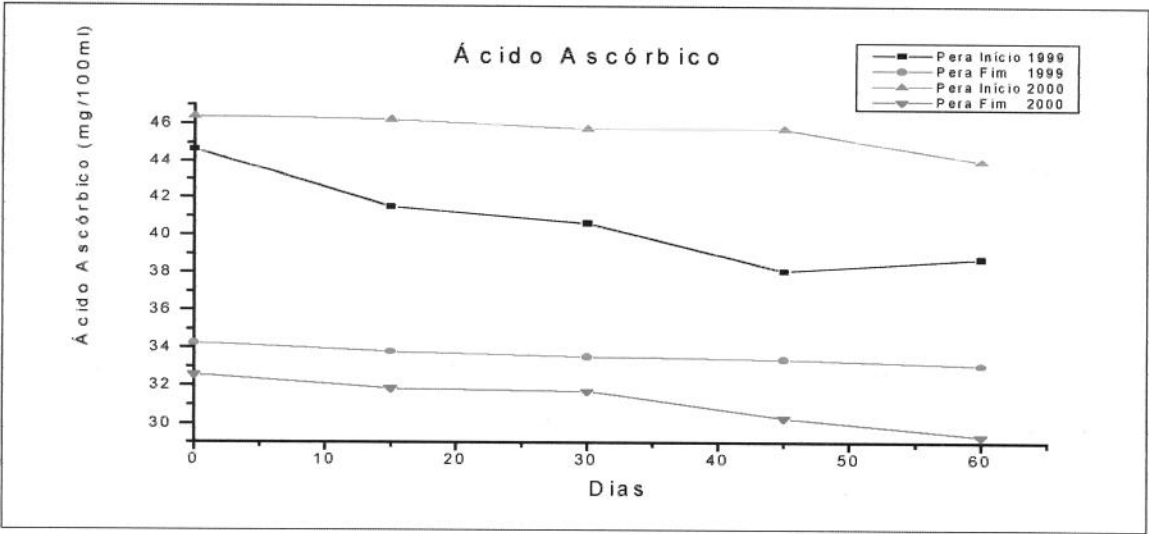


Figura 4: Conteúdo de ácido ascórbico no suco de laranja obtido a partir da variedade Pêra.

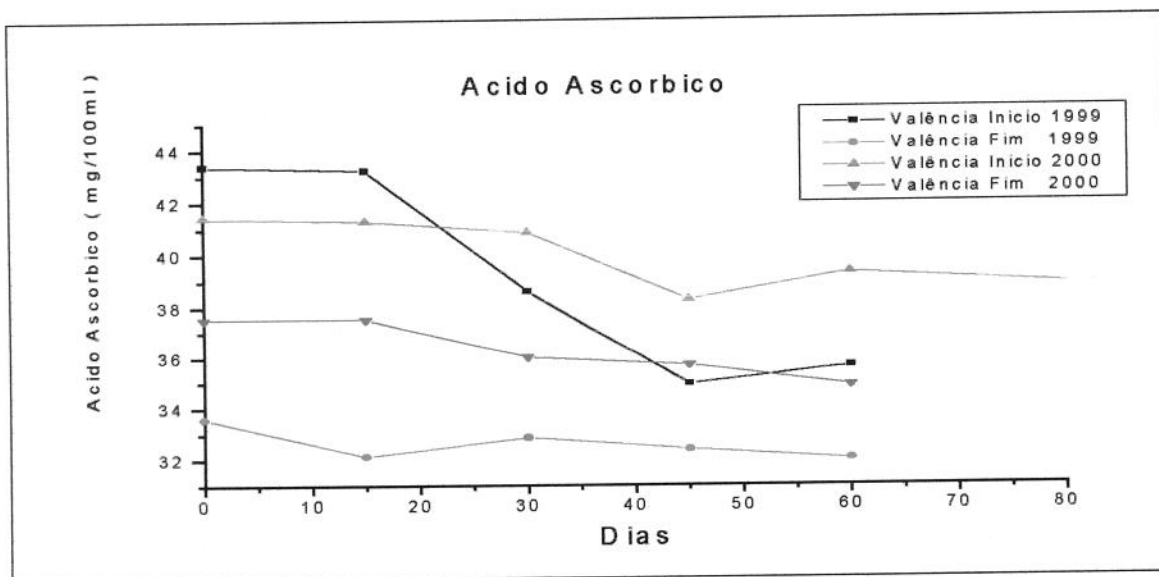


Figura 5: Conteúdo de ácido ascórbico no suco de laranja obtido a partir da variedade Valência.

5.2. ACIDEZ TITULÁVEL

Os valores encontrados de acidez titulável estão indicados nas figuras 6, 7 e 8.

Houve diferença significativa ao nível de 5% na acidez das amostras, principalmente em relação as amostras de início de safra, que apresentaram valores superiores a 1% (Variedade Pêra).

As amostras apresentaram diminuição significativa da acidez durante a vida de prateleira. Constatou-se que as laranjas de fim de safra apresentaram uma diminuição significativa na acidez em relação as laranjas de início de safra o que já havia sido observado nas variedades anteriores. Observa-se também que existe diferença significativa na acidez entre todos os lotes.

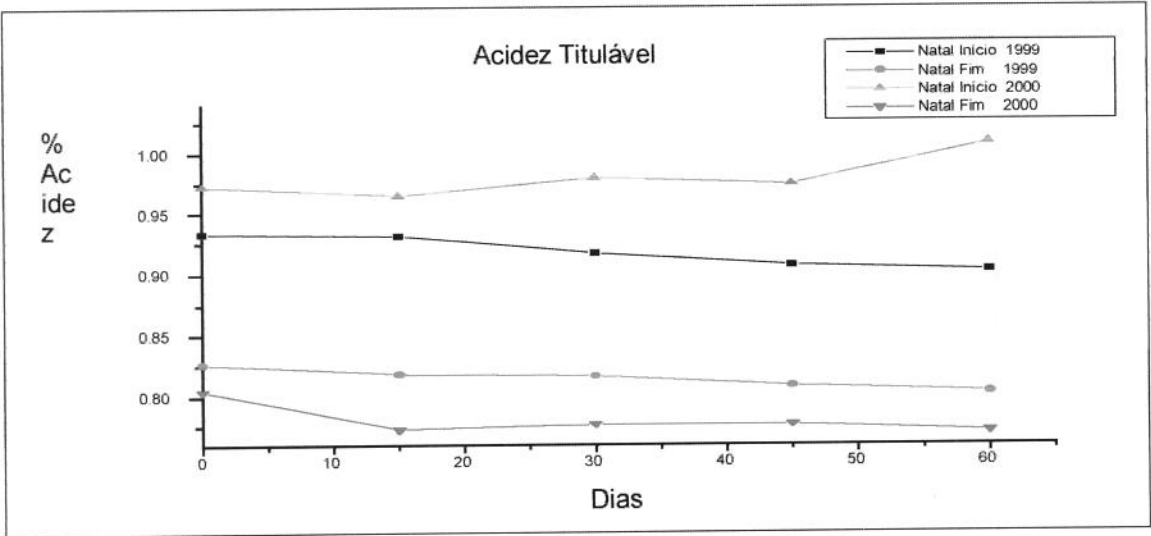


Figura 6: Variação da porcentagem de acidez durante a vida de prateleira dos sucos de laranja dos 4 diferentes lotes de laranja Natal (Início e fim de safras 99/00).

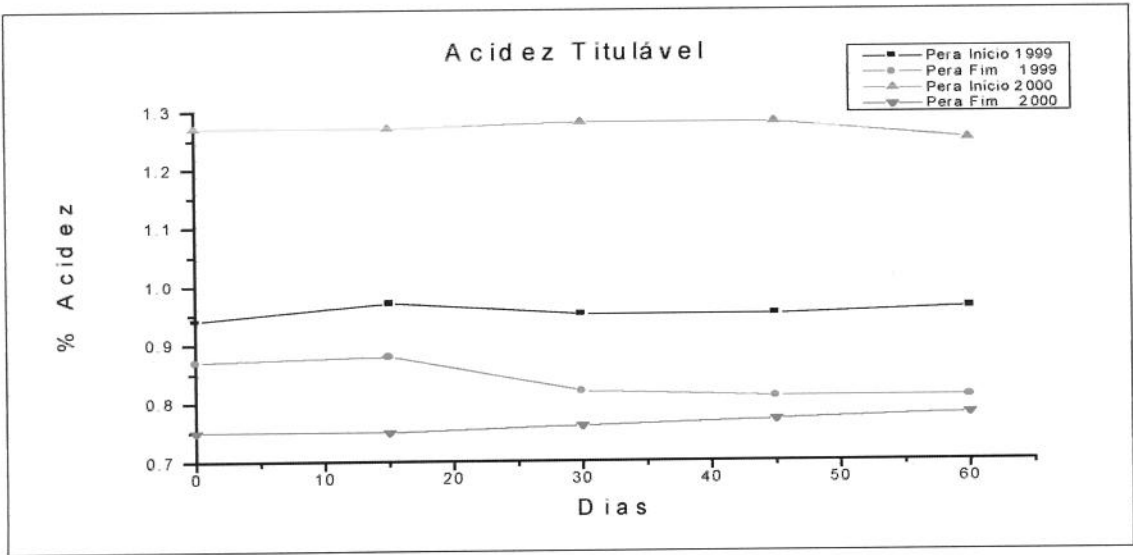


Figura 7: Variação da porcentagem de acidez durante a vida de prateleira dos sucos de laranja dos 4 diferentes lotes de laranja Pera (Início e fim de safras 99/00).

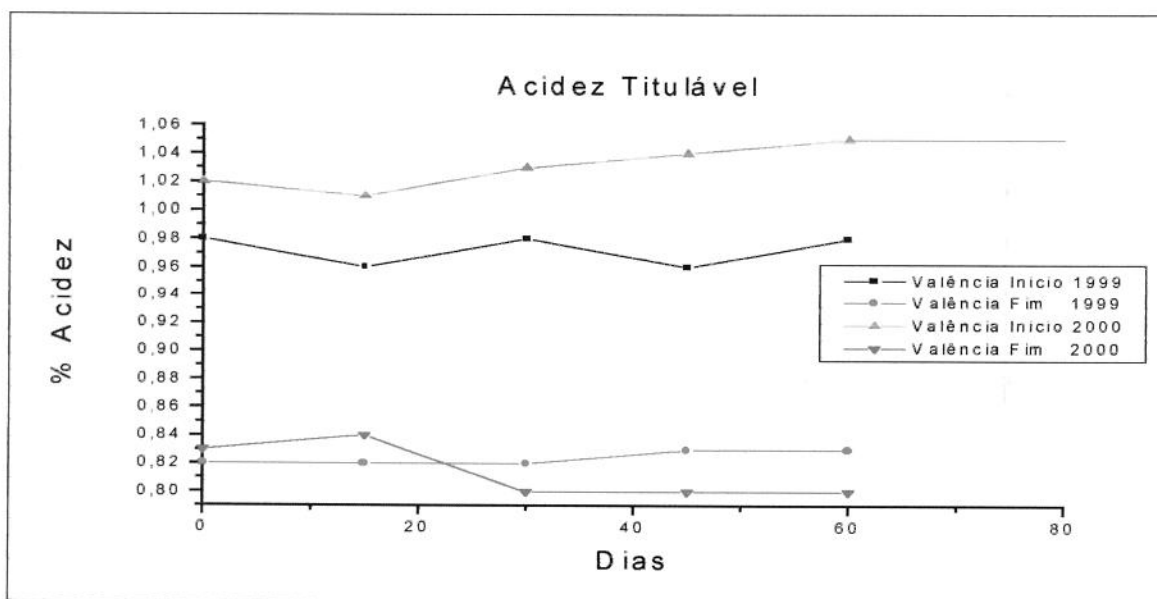


Figura 8 : Variação da porcentagem de acidez durante a vida de prateleira dos sucos de laranja dos 4 diferentes lotes de laranja Valência (Início e fim de safras 99/00).

5.3. SÓLIDOS SOLÚVEIS (°BRIX)

Em relação ao teor de sólidos solúveis das amostras (Tabelas 3, 4 e 5), os lotes apresentaram-se relativamente estáveis, com uma pequena diferença significativa durante o tempo armazenagem. Entretanto, essa diferença não comprometeria a qualidade do suco.

Podemos observar que para as variedades Natal e Valência, as amostras de início de safra apresentaram valores superiores de sólidos solúveis em relação aos lotes de fim de safra, mas isso não é uma tendência observada na variedade Pêra. Essas variações, entretanto, são importantes no aspecto de qualidade do suco, indicando que deve haver uma padronização durante a safra.

Tabela 3. Valores médios (*) de sólidos solúveis da Variedade Natal

Dias	Início 1999	Fim 1999	Início 2000	Fim 2000
0	12.10aA	11.93aB	12.10aC	10.96aB
15	11.93bA	12.18bB	12.50bC	10.36aD
30	12.02cA	12.02cA	12.78cB	10.36aC
45	12.10aA	12.02cB	11.86dC	10.36aD
60	11.93bA	12.02cB	11.86dC	10.50bD

(*) Valores médios de 3 determinações analíticas.

As médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si ao nível de 5%

As letras minúsculas a , b , c , d , e , comparam os valores da coluna da tabela.

As letras maiúsculas A , B , C , D , comparam os valores nas linhas da tabela.

Tabela 4. Valores médios (*) de sólidos solúveis da Variedade Pêra

Dias	Início 1999	Fim 1999	Início 2000	Fim 2000
0	11.33aA	11.50aA	12.36aB	13.02aC
15	11.52aA	12.00bB	12.52bC	13.43bD
30	11.31aA	12.28cB	12.43cB	13.43bC
45	10.71bA	11.50aB	12.52bC	14.03cD
60	11.21aA	12.00bB	12.28dC	14.03cD

(*) Valores médios de 3 determinações analíticas.

As médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si ao nível de 5%

As letras a , b , c , d , e , comparam os valores da colunas da tabela.

As letras A , B , C , D , comparam os valores nas linhas da tabela.

Tabela 5: Valores médios (*) de sólidos solúveis da variedade Valência

Dias	Início 1999	Fim 1999	Início 2000	Fim 2000
0	12.93aA	11.43aB	12.60aC	11.1aD
15	12.36bA	11.78bB	12.60aC	11.1aD
30	12.60cA	11.18cB	12.52bB	11.1aC
45	12.60cA	11.36dB	12.52bC	11.1aD
60	12.60cA	11.86eB	12.60aA	11.1aC
80			12.60a	

(*) Valores médios de 3 determinações analíticas.

As médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si ao nível de 5%

As letras a , b , c , d , e , comparam os valores da colunas da tabela.

As letras A , B , C , D , comparam os valores nas linhas da tabela.

5.4. RELAÇÃO SÓLIDOS SOLÚVEIS/ACIDEZ TITULÁVEL (“RATIO”)

A relação sólidos solúveis/acidez, mais conhecida pela indústria como “ratio” é um dos índices mais utilizados para definir a maturação das frutas cítricas.

Os valores de “ratio” apresentados nas Figuras 9, 10 e 11, confirmam a tendência de variação dentro de uma mesma safra e relacionando-se esse item com a aceitação do produto verifica-se uma tendência de maior aceitação para a amostra de suco no “ratio” superior a 14 amostra de final de safra 1999. Amostras com “ratio” superior a 16 podem apresentar maior tendência de desenvolver sabor cozido e passado na vida de prateleira.

Amostras com “ratio” inferior a 13 , contendo elevadas porcentagens de acidez podem apresentar baixos níveis de aceitação pelo consumidor.

Frutas não maduras são aquelas que apresentam ratio <12.

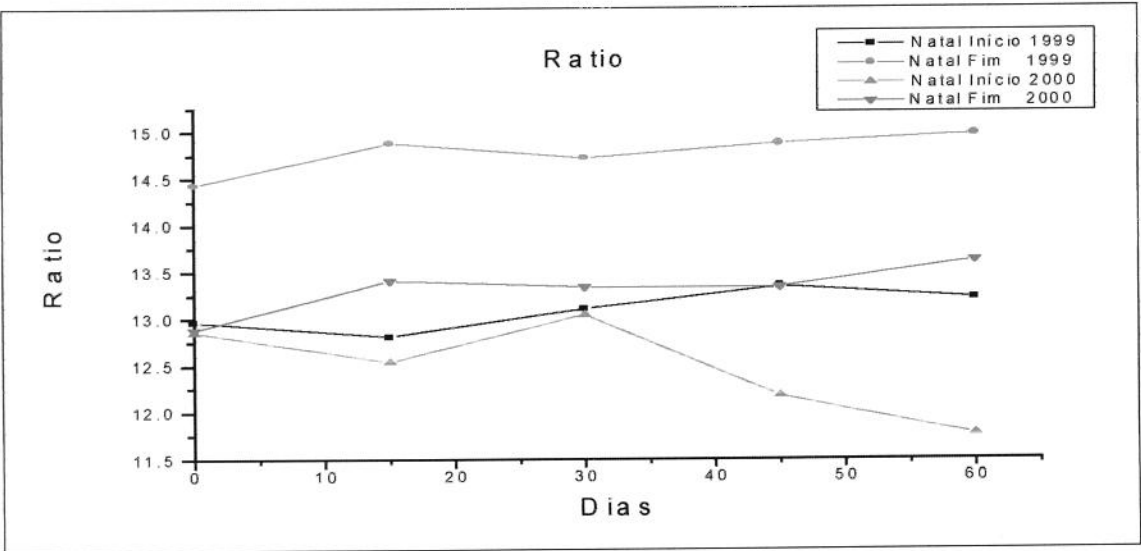


Figura 9: Variação do Ratio durante a vida de prateleira dos Sucos de Laranja dos 4 diferentes Lotes de Laranja Natal.

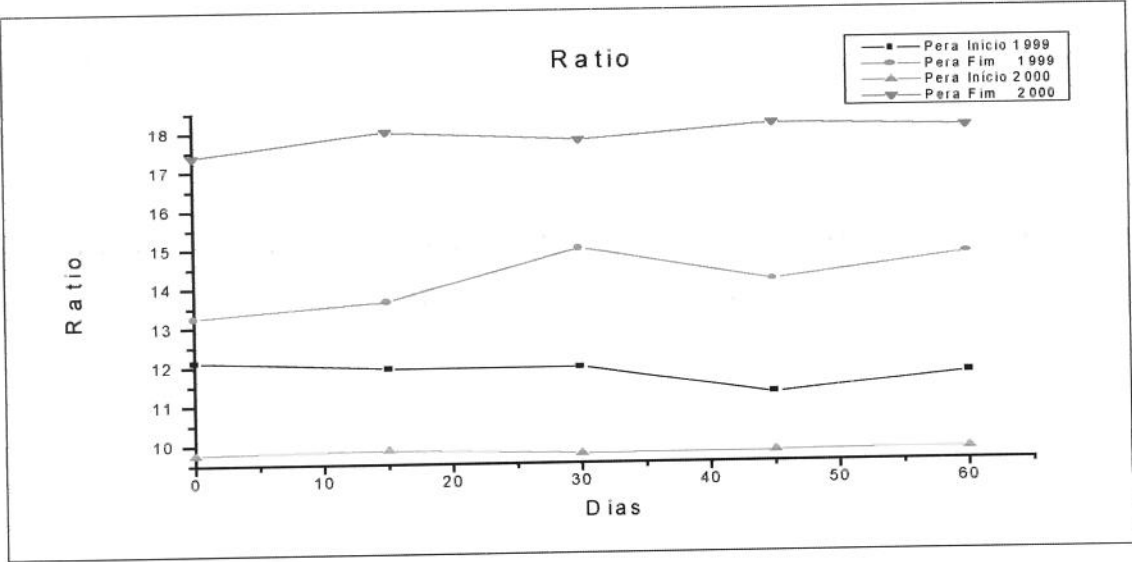


Figura 10: Variação do “ratio” durante a vida de prateleira dos sucos de laranja dos 4 diferentes lotes de laranja Pêra

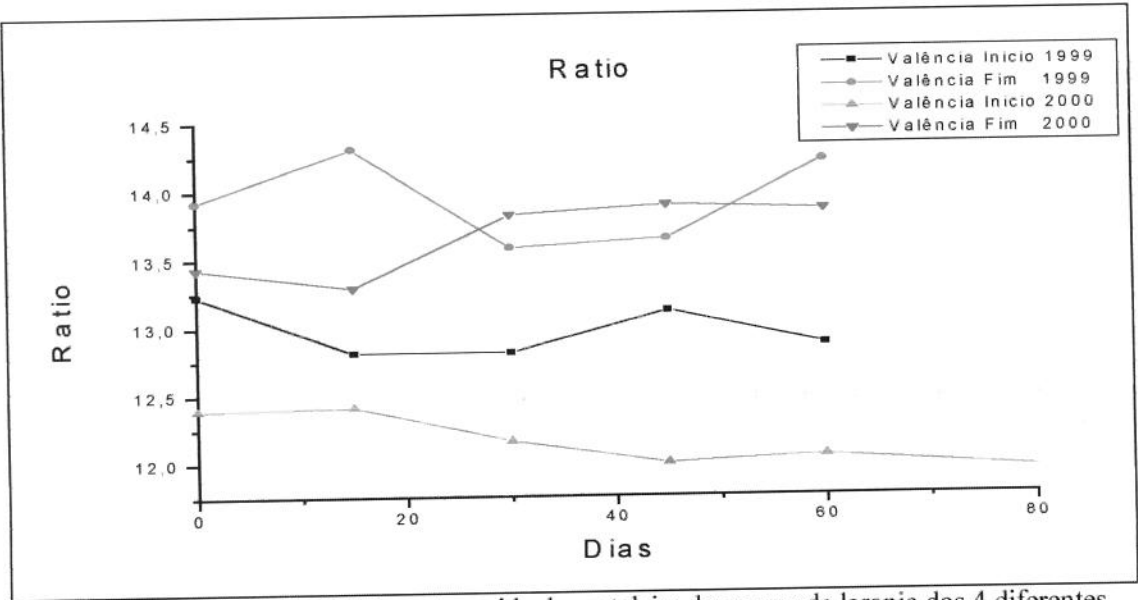


Figura 11: Variação do “ratio” durante a vida de prateleira dos sucos de laranja dos 4 diferentes lotes de laranja Valência.

5.5. INDICES DE COR L_{Hunter} , a_{Hunter} e b_{Hunter}

Os índices de cor indicados nas Tabelas 6 a 14 evidenciam que a cor do suco pode variar de maneira significativa durante a safra, principalmente devido a alterações de pigmentos amarelos, verdes e vermelhos presentes nos frutos. Na maioria dos vegetais, a clorofila (pigmento verde) tende a diminuir com a maturação dos frutos, quando então os pigmentos amarelos (carotenóides) começam a ser identificados visualmente. Os resultados mostraram que durante a vida de prateleira, os valores de vermelho aumentam e os valores de luminosidade e amarelo tendem a diminuir, indicando uma provável reação de escurecimento nos sucos durante o período de armazenamento.

Esperava-se que os valores de a_{Hunter} (intensidade vermelho) aumentassem de maneira significativa durante a estocagem para todas as variedades. Isso pode ser observado para as variedades Natal e Valência, nas amostras de início e fim de safra, para as duas safras. Entretanto, para a variedade Pêra isso este aumento significativo foi observado nas amostras de fim de safra, nas duas safras estudadas.

Muitos autores mostraram uma direta relação entre o aumento do escurecimento e a diminuição do teor de ácido ascórbico. O mecanismo de degradação aeróbica e anaeróbica do ácido ascórbico resulta em pigmentos escuros e compostos que tem sido relacionados a alteração do sabor do suco.

Os resultados de estocagem do suco pasteurizado a temperatura ambiente, estão em concordância com outros autores, que concluíram também, que as condições de processamento e estocagem são os principais fatores que afetam a retenção de vitamina C e formação de escurecimento não enzimático e diminuem o valor comercial de produtos cítricos como laranja e grapefruit. (Rassis & Saguy, 1995; Kaanane *et al.*, 1988; Lee & Nagy, 1988a; Marcy *et al.*, 1989; Saguy *et al.*, 1978a, 1978b).

Foi encontrada uma variabilidade significativa do índice de luminosidade, entre as épocas de colheita e entre as safras para todas as variedades. O suco de laranja obtido da variedade Valência apresentou uma tendência significativa de diminuição de luminosidade para todas as amostras durante o período de estocagem.

Tabela 6: Valores médios (*) de Luminosidade (L_{Hunter}) dos sucos da Variedade Natal

Dias	Início 1999	Fim 1999	Início 2000	Fim 2000	D.M.S (5%)
0	42.20aA	37.73aB	41.80aC	41.11aD	0.19
15	42.31aA	42.47bB	42.08bC	40.90bD	0.14
30	42.17aA	42.63cB	41.97bC	40.99abD	0.17
45	41.80bA	42.23dB	41.95abA	40.96abC	0.21
60	41.93bA	42.32dB	42.39cB	40.85bC	0.23
D.M.S (5%)	0.19	0.22	0.18	0.18	

Tabela 7: Valores médios (*) de intensidade de vermelho (a_{Hunter}) dos sucos da Variedade Natal

Dias	Início 1999	Fim 1999	Início 2000	Fim 2000	D.M.S (5%)
0	3.86aA	4.99aB	3.92adA	2.72aC	0.11
15	4.39bA	4.62bB	3.71bC	2.83abD	0.13
30	4.10cA	4.80cB	3.91aC	2.92bcD	0.17
45	4.19cA	4.82cdB	4.04cdC	2.95cD	0.11
60	4.40bA	4.93adB	4.12cC	3.10dD	0.14
D.M.S (5%)	0.12	0.12	0.12	0.11	

Tabela 8: Valores médios (*) de intensidade de amarelo (b_{Hunter}) da Variedade Natal

Dias	Início 1999	Fim 1999	Início 2000	Fim 2000	D.M.S (5%)
0	18.60aA	20.74aB	18.13aC	16.65aD	0.15
15	18.42bA	18.68bB	18.17bC	16.39bD	0.11
30	18.35bA	18.71bB	18.16bC	16.31bD	0.13
45	18.05cA	18.43cB	18.12bA	16.33bC	0.12
60	18.13cA	18.38cB	18.14bAB	16.28bC	0.25
D.M.S (5%)	0.13	0.17	0.13	0.14	

(*) Valores médios de 3 determinações analíticas.

D.M.S. (5%) Diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%.

As médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si.

As letras a , b , c , d , e , comparam os valores da coluna da tabela.

As letras A , B , C , D , comparam os valores nas linhas da tabela.

Tabela 9: Valores médios (*) de Luminosidade (L_{Hunter}) da Variedade Pêra

Dias	Início 1999	Fim 1999	Início 2000	Fim 2000	D.M.S (5%)
0	41.50aA	42.33aB	43.48aC	45.54aD	0.27
15	41.79aA	43.61bB	43.07bC	45.93bD	0.16
30	42.23bA	43.46bB	43.10bC	45.72cD	0.12
45	43.11cAB	42.81acA	43.42aB	45.69cC	0.60
60	43.07cA	43.11bcA	43.09bA	45.42aB	0.27
D.M.S (5%)	0.29	0.60	0.15	0.12	

Tabela 10: Valores médios (*) de intensidade de vermelho (a_{Hunter}) da Variedade Pêra

Dias	Início 1999	Fim 1999	Início 2000	Fim 2000	D.M.S (5%)
0	4.08aA	3.71aB	3.37aC	2.90aD	0.21
15	3.55bA	4.17bB	3.56bA	3.00aC	0.12
30	3.84cA	4.22bcB	3.62bcC	3.16bD	0.17
45	3.80cA	4.29cB	3.69cA	3.34cC	0.16
60	3.96acA	4.29cB	3.98dA	3.39cC	0.11
D.M.S (5%)	0.17	0.10	0.12	0.10	

Tabela 11: Valores médios (*) de intensidade de amarelo (b_{Hunter}) da Variedade Pêra

Dias	Início 1999	Fim 1999	Início 2000	Fim 2000	D.M.S (5%)
0	19.67aA	19.06aB	19.65aA	20.27aC	0.18
15	18.50bA	19.71bB	19.35bC	20.18bD	0.12
30	18.74cA	19.50bcB	19.25bdC	19.99cD	0.12
45	19.05dA	19.19acA	19.11cA	19.94cB	0.49
60	19.10dA	19.29acB	19.14cdA	19.78dC	0.14
D.M.S (5%)	0.14	0.41	0.13	0.06	

(*) Valores médios de 3 determinações analíticas.

D.M.S. (5%) Diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%.

As médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si.

As letras minúsculas a, b, c, d, e, comparam os valores da coluna da tabela.

As letras maiúsculas A, B, C, D, comparam os valores na linha na tabela.

Tabela 12: Valores médios (*) de Luminosidade (L_{Hunter}) da Variedade Valência

Dias	Início 1999	Fim 1999	Início 2000	Fim 2000	D.M.S (5%)
0	42.52acA	41.97aB	41.36aC	40.57aD	0.29
15	43.02bA	41.94aB	41.23bC	40.52aD	0.11
30	42.76bcA	40.58bBC	40.98cB	40.25aC	0.41
45	42.06adA	41.19cB	40.59dC	40.34aD	0.13
60	41.70dA	41.45cA	40.26eA	39.61aA	2.15
80			40.01f		
D.M.S (5%)	0.47	0.41	0.08	1.74	

Tabela 13: Valores médios (*) de intensidade de vermelho (a_{Hunter}) da Variedade Valência

Dias	Início 1999	Fim 1999	Início 2000	Fim 2000	D.M.S (5%)
0	4.57aA	3.44aB	2.06aC	1.45aD	0.32
15	4.38bA	3.43bA	2.13aB	1.58aC	0.11
30	4.61abA	3.46aB	2.29bC	1.71aD	0.13
45	5.55cA	3.60cB	2.44cC	1.80aD	0.12
60	5.28cA	3.67cB	2.52dC	1.75aD	0.47
80	nd	nd	2.60e	nd	
D.M.S (5%)	0.34	0.07	0.07	0.43	

Tabela 14: Valores médios (*) de intensidade de amarelo (b_{Hunter}) da Variedade Valência

Dias	Início 1999	Fim 1999	Início 2000	Fim 2000	D.M.S (5%)
0	19.72aA	18.12aB	16.74aA	15.39aC	0.46
15	19.10bA	17.65bB	16.68bC	15.34aD	0.24
30	19.03cA	17.16cB	16.47cC	15.09aD	0.16
45	19.54abA	17.33dB	16.24dC	15.22aD	0.11
60	18.74cA	17.39dAB	15.99eBC	14.47aC	1.59
80	nd	nd	15.69f	nd	
D.M.S (5%)	0.47	0.14	0.04	1.45	

(*) Valores médios de 3 determinações analíticas.

D.M.S. (5%) Diferença mínima significativa pelo teste de Tukey a 5%.

As médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si.

As letras minúsculas a, b, c, d, e, f comparam os valores da coluna na tabela.

As letras maiúsculas A, B, C, D, comparam os valores da linha na tabela.

5.5.1. Teste de Aceitação do Suco

Os testes afetivos foram feitos com 30 provadores com faixa etária entre 18 e 50 anos, consumidores em potencial de suco de laranja.

Os resultados dos testes afetivos mostraram que não houve correlação significativa em relação a variedade da amostra de suco de laranja e a maior aceitação dos provadores, ou seja, não foi detectada uma preferência em relação a alguma das variedades.

A amostra com menor média de aceitação (5.90), foi caracterizada pela equipe descritiva com menor intensidade de aroma e sabor de fresco (Valência 4). A amostra Pêra 3, que obteve uma aceitação moderada (6.56), apresentou intensidade de amargor e acidez elevada, mostrando o efeito negativo desses atributos sobre a aceitação do suco de laranja.

Entretanto, as amostras de suco de laranja Valência da primeira safra apresentaram uma melhora significativa de sua aceitação durante a vida de prateleira (o que não era esperado, porque em geral a aceitação dos produtos alimentícios diminuem durante estocagem) e também maior porcentagem de comentários pelos provadores de atributos como sabor característico de laranja, sabor doce e corpo, indicando um melhor desempenho dessa variedade em relação a aceitação do suco.

Os resultados das análises sensoriais indicaram que, até 60 dias de vida de prateleira, a maioria dos sucos estudados, apresentou diferença significativa na aceitação pelos provadores. A amostra (Pêra 3, início da segunda safra), que apresentou maior teor acidez titulável (Tabela 1) também apresentou maior incidência de comentários de sabor ácido excessivo e não apresentou comentários sobre sabor de cozido durante a vida de prateleira, indicando que a acidez pode ser um inibidor de reações oxidativas que favorecem o sabor de cozido em suco de laranja pasteurizado.

Tabela 15: Valores médios de notas de aceitação das amostras de suco de laranja em diferentes períodos de vida de prateleira.

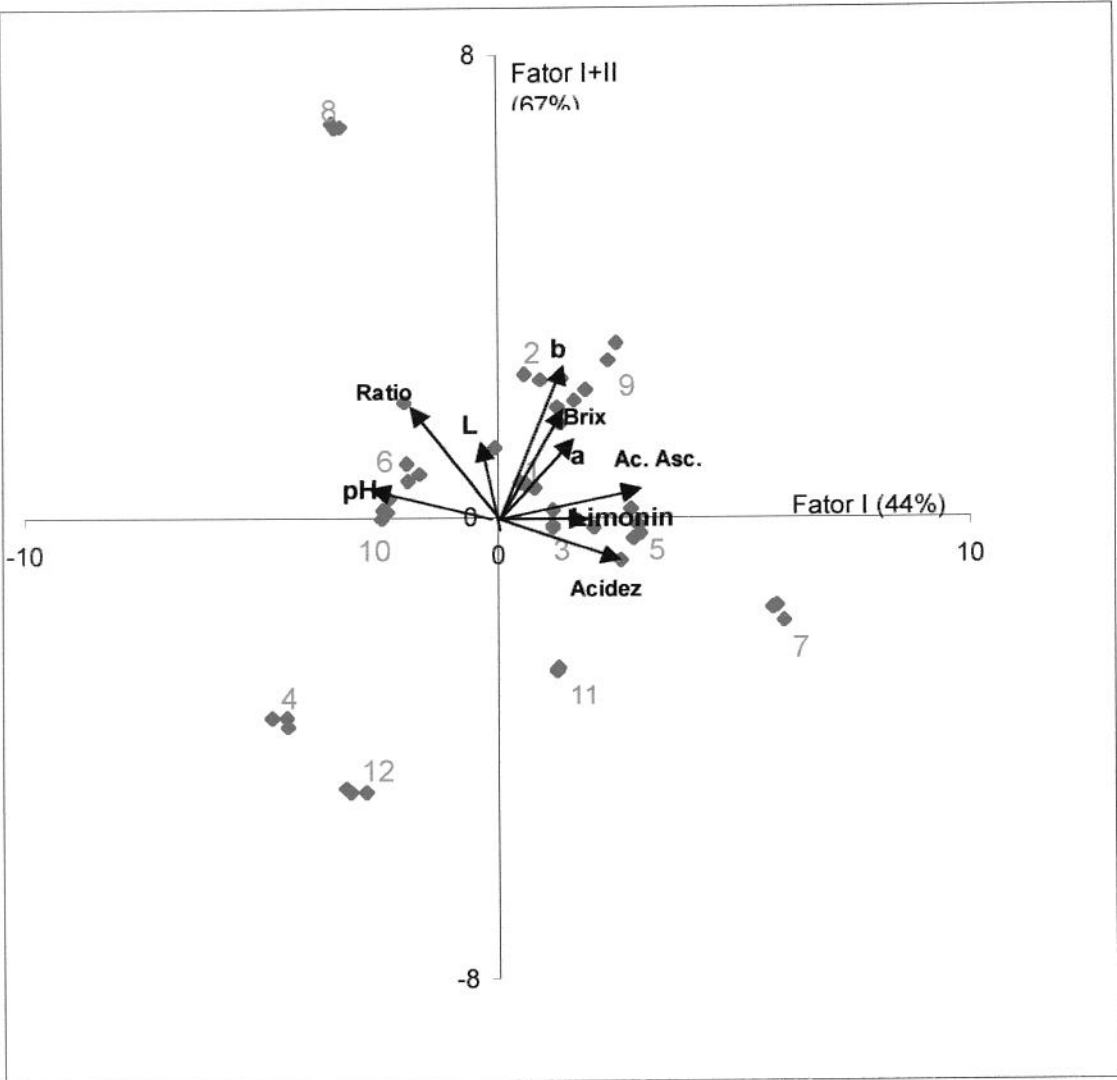
Amostras	Vida de Prateleira (0 dias)	Vida de Prateleira (60 dias)
NATAL1	6.50e,f,g,h	7.20 a,b
NATAL2	6.80b,c,d,e,f	6.93 a,b,c,d
NATAL3	7.23 a,b	7.00 a,b,c,d
NATAL4	7.07 a,b,c	6.40 f,g,h
PERA1	6.60 d,e,f	6.10 g,h,i
PERA2	7.37 a	7.00 a,b,c,d
PERA3	6.56 d,e,f,g	5.93 i
PERA4	6.56 c,d,e,f	5.87 i
VALÊNCIA1	6.50 e,f,g,h	7.00 a,b,c,d
VALÊNCIA2	7.16 a,b,c	7.40 a
VALÊNCIA3	6.40 f,g,h	6.07 h,i
VALÊNCIA4	5.90 i	5.90 i

N = 30 provadores
Médias na coluna e linha, com mesma letra, não diferem significativamente entre si (p<0,05)
Amostras codificadas como 1 e 2 representam a **primeira safra** estudada, sendo que as amostras com código 1 são provenientes de laranja de início da safra e 2 do fim da safra.
Amostras codificadas como 3 e 4 representam a **segunda safra** estudada, sendo que as amostras com código 3 são provenientes do início da safra e 4 do fim da safra.

5.5.2. Relação entre as características químicas e físico-químicas e a aceitação sensorial das amostras.

O gráfico de Análise de Componente Principal (ACP), figura 12, apresenta através da representação por vetores, algumas características químicas e físico-químicas das amostras de suco (codificadas de 1 a 12 e representadas por pontos). Amostras similares, ocupam regiões próximas no gráfico e são caracterizadas pelos vetores mais próximos à elas. A importância da característica química na discriminação entre as amostras pode ser

verificada através do tamanho do vetor representativo de cada atributo; quanto maior o vetor mais importante seu papel para discriminar as amostras.



Legenda:

Suco de Laranja Natal	Suco de Laranja Pêra-Rio	Suco de Laranja Valência
1 – Início da Primeira Safra	5 – Início da Primeira Safra	9 – Início da Primeira Safra
2 – Fim da Primeira Safra	6 – Fim da Primeira Safra	10 – Fim da Primeira Safra
3 – Início da Segunda Safra	7 – Início da Segunda Safra	11 – Início da Segunda Safra
4 – Fim da Segunda Safra	8 – Fim da Segunda Safra	12 – Fim da Segunda Safra

Figura 12: Projeção das características químicas e físico-químicas (vetores) e amostras de suco de laranja(1 a 12) nos componentes principais I e II.

As amostras 1,2,3,5,7, 9 e 11 estão próximas e foram caracterizadas pelos vetores de cor a_{Hunter} e b_{Hunter} , pelos valores de Brix, Acidez, Teores de Ac. Ascórbico e de limonin. Com exceção da amostra 2, todas as demais amostras são de início de safra e abrangem todas as variedades estudadas.

As amostras 6 e 10, variedades Pêra-Rio e Valência foram caracterizadas pelos valores de Ratio, pH e Luminosidade (L_{Hunter}), sendo ambas amostras de fim de safra.

As amostras 4 e 12 se destacaram das demais, sendo caracterizadas pelo pH. A amostra 8 foi caracterizada pela Luminosidade e Ratio. Essas amostras apresentaram em comum o fato de pertencerem a segunda safra estudada e o período de fim de maturação das variedades do estudo.

As amostras com maior aceitação sensorial foram caracterizadas pelo valor de “ratio”, luminosidade e Brix elevado.

As amostras com menor aceitação sensorial foram caracterizadas pela acidez intensa e teor elevado de limonin(substância que confere amargor ao suco).

6. CONCLUSÕES

Dentre as variáveis estudadas, as que apresentaram maior correlação com o nível de aceitação do suco de laranja foram: o teor de sólidos solúveis, acidez titulável, “ratio” e o teor de limonin.

A variável “ratio” utilizada para identificar o grau de maturação das frutas cítricas deve ser verificada dentro um contexto mais amplo e pode ser um indicador da característica sensorial do produto a ser consumido.

Valores de “ratio” elevado podem caracterizar uma diminuição da aceitabilidade em função da percepção de passado e cozido que podem se desenvolver no produto após a pasteurização e durante a vida de prateleira.

Foi encontrada diferença significativa nos valores de acidez titulável, de início e fim de safra, para as variedades estudadas.

A acidez do suco afeta significativamente a qualidade sensorial do produto, diminuindo a aceitação do produto.

Os valores de ácido ascórbico dos sucos produzidos a partir das frutas de início de safra foram significativamente superiores as do suco provenientes da fruta de fim de safra para as variedades Pêra, Valência.

Independente da concentração inicial de ácido ascórbico os teores tendem a diminuir durante a vida de prateleira do produto, podendo diminuir de 5 a 15% após 60 dias de estocagem.

Em relação as variáveis relacionadas aos índices de cor, foi encontrada grande variabilidade entre as amostras (variedades) e entre as safras, indicando que a coloração do suco é de difícil padronização.

7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABECITRUS. 2000. associação Brasileira dos Exportadores de Cítricos. Disponível na Internet <http://www.abecitrus.com.br/opina.html>. Acesso em 14 Abril 2000.

AOAC: Official Methods of Analysis Association of official Analytical Chemists, Washington, D.C., P. 844-855, 1990.

ALBALÁ-FURTADO, S.; VECIANA-NOGUÉS, M.T.; MARINÉ-FONT, A.; VIDAL-CAROU, M.C. Progress of Browning Reactions during Storage of Liquid Infant Milks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10):4033-4037. 1999.

BENSON, L. M.; NAYLOR, S.; TOMLINSON, A.J. Investigation of Maillard reaction products using ^{15}N isotope studies and analysis by electrospray ionization-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 62(2):179-183, 1998.

BERRY, R. E.; TATUM, J. H. 5 Hidroxymethylfurfural in stored foam Mat Orange powders. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 13(3):588-590, 1965.

BETTINI, M. F.M. Estudos de aromas Cítricos através de métodos sensoriais cromatográficos e espectroscópicos. São Carlos, 1995. 277p. Tese (Doutorado em ciências – Química Analítica). Instituto de Química, Universidade de São Paulo.

BISSETT, W. O.; BERRY, R. E. Ascorbic Acid retention in orange juice as related to container type. *Journal of Food Science*, 40(1):178-180, 1975

BLANCO-GOMIS, D.; GUTIERREZ-ALVAREZ, M. D.; SOPENA-NAREDO, L.; MANGAS-ALONSO, J. J. High-performance liquid chromatographic determination of furfural and hydroxymethylfurfural in apple juices and concentrates. *Chromatography*, 32:45-48, 1999.

BUSLIG, B. S. Orange. In: ESKIN, N.A.M. *Quality and Preservation of Fruits*. Boca Raton CRC Press, chap.1:p.2-15, 1990.

- CARLSON, V. R. Aseptic packaging techniques. *Food Technology*, 38:47-50, 1984.
- CARLSON, V. R. Aseptic packaging update. Proceedings 23rd Annual Short Course for the Food Industry, University of Florida, Gainesville, p. 251, 1983.
- CORRÊA NETO, R. S. Processamento de suco de Laranja Pasteurizado em garrafas de polietileno tereftalado (PET). Campinas, 1998. p.1-9. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- CURL, A. L.; VELDHUIS, M. K. The origin of the flavor which develops in processed orange juice. *Fruits Products Journal*, 26: 329-331, 1947
- CUTZACH, I.; CHATONNET, P.; DUBOURDIEU, D. Study of the formation mechanisms of some volatile compounds during the aging of sweet fortified wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(7): 2837-2846, 1990.
- DONADIO, L. C.; FIGUEIREDO, J. O.; PIO, R. M. *Variedades cítricas brasileiras*. FUNEP, Jaboticabal, SP, Brasil, 228p. , 1995.
- DINSMORE, H. L.; NAGY, S. Colorimetric Furfural Measurement as an index of deterioration in stored citrus juice. *Journal of Food Science*, 37(3):768-769, 1972.
- DINSMORE, H. L.; NAGY, S. Fruits and fruits products – Improved colorimetric determination for furfural in citrus juice. *Journal of Association of Official Analytical Chemistry*, 57(2):332-333, 1974.
- ESPINOSA-MANSILLA, A.; DURAN-MERAS, I.; LOPEZ, F. S. Kinetic determination of 2-furfuraldehyde based in a modified Winkler's method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(10):2962-2965, 1996.
- FERREIRA, V. L. P.; FRANCIS, F. J.; YOTSUI, Y. K. Cor e carotenóides totais do suco de maracujá (*Passiflora edulis*, Sins). *Coletânea do ITAL*, Campinas, V. 19, n. 1, P. 50-58, 1989.

GRAUMLICH, T. R.; MARCY, J. E.; ADAMS, P. Aseptically packaged orange juice and concentrate: a review of the influence of processing and packaging conditions on quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34:402-405, 1986.

HANDWERK, R. L.; COLEMAN, R. L. Approaches to the citrus browning problem. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(2):231-236, 1988.

IZQUIERDO, L.; GASQUE, F.; NIETO, P.; LAFUENTE, B. Zumo de naranja refrigerado. IV – Preparación de zumo de calidad uniforme a la largo del año. *Revista Agroquímica y Tecnología de los Alimentos*, 20(4):525 – 530, 1980.

KAANANE, A.; KANE, D.; LABUZA, T. P. Time e temperature effect on stability of moroccan processed orange juice during storage. *Journal of Food Science*, 53(5):1470-1473, 1998.

KENNEDY, J. F.; RIVERA, Z. S.; LOID, L. L.; WARNER, F. P.; JUMEL, K. L-ascorbic acid stability in aseptically processed orange juice in TetraBrik cartons and effect of oxygen. *Food Chemistry*, 45(3):327-331, 1992.

KIMBALL, D. Citrus oil, aromas and essences. In: *Citrus processing quality control and food technology*, Van Nostrand Reinhold Ed., pp.73-101, New York, 1991.

LAFUENTE, B.; GASQUE, F.; NIETO, P.; ISQUIERDO, L. Frozen concentrate orange juice from varieties grown in Valencia (Spain). *Revista Agroquímica y Tecnología de los Alimentos*, 19:82-87, 1979.

LAFUENTE, B.; GASQUE, F.; NIETO, P.; ISQUIERDO, L. Zumo de naranja refrigerado. II- Influencia de la variedad y del índice de madurez sobre su calidad. *Revista Agroquímica y Tecnología de los Alimentos*, 18(2):180-192, 1978.

LEE, H. S.; NAGY, S. Quality changes in nonenzymatic browning intermediates in grapefruit juice during storage. *Journal of Food Science*, 53 (1):168-172, 1988a.

LEE, H. S.; NAGY, S. Relationship of sugar degradation to detrimental changes in citrus juice quality. *Food Technology*, 42(1):91-97, 1988b

- LEE, H. S.; ROUSEFF, R. L.; NAGY, S. HPLC in determination of furfural and 5-hidroxymethylfurfural in citrus juices. *Journal of Food Science*, 51(4): 1075-1076, 1986
- MANNHEIM, C. H. Factors affecting the taste, quality and appearance of aseptically packed citrus juice. *Proceedings Aseptipak 85*, Schotland Business Research, Inc. Princepton, New Jersey, 1985, 339p.
- MARAUJA, M. D.; BLAIR, J. S.; OLSEN, R. W.; WENZEL, F. W. Furfural as an index of flavor deterioration in canned citrus juice. *Proceedings of Flórida State Horticultural Society*, 86(2): 270-272, 1973.
- MARCY, J. E.; ROUSEFF, R. L. High performance liquid chromatography determination of furfural in orange juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32(5): 979-980, 1984.
- MARCY, J. E.; HANSEN, A. P.; GRAUMLICH, T. R. Effect of storage temperature on the stability of aseptically packaged concentrated orange juice and concentrate orange drink. *Journal of Food Science*, 54:227-228, 1989.
- MEYDAV, S.; BERK, Z. Colorimetric Determination of Browning Precursors in Orange Juice Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26 (2): 262-285, 1978.
- MOSHONAS, M.G.; SHAW, P.E. Flavor evaluation and volatile flavor constituents of stored aseptically packaged orange juice. *Journal of Food Science*, 54(1):82-85, 1989.
- NAGY, S.; DINSMORE, H. L. Relation of furfural to temperature abuse and flavor change in commercially canned single strength orange juice. *Journal Food Science*, 39(4):1116-1118, 1974.
- NAGY, S.; RANDALL, V. Use of furfural content as an index of storage temperature abuse in commercially processed orange juice. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 21 (2): 272-273, 1973.

NAGY, S.; RANDALL, V.; DINSMORE, H. L. Furfural measurements an index of temperature abuse in stored grapefruit juices. *Proceedings of Flórida State Horticultural Society*, 85(2):222-224, 1972

NAGY, S.; SHAW, P. E.; MORTON, I. D.; MACLED. A. R. Factors affecting the flavor of citrus fruits. In *Food flavors of fruits*. New York, Eds. Elsevier, p. 93-124, 1990.

POLLARD, A ; TIMBERLAKE, E. F. *The Biochemistry of fruits and their products*. New York , Academic Press, v.2, p.573-621, 1971.

PUPIN, A. M. Estudo da composição de Laranjas Brasileiras (*Citrus sinensis*) e seu uso como comprovação de autenticidade de suco de Laranja. Campinas, 1997. p.1-6. Tese (Doutor em Ciências de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

RASSIS, D.; SAGUY, S. I. Kinetics of aseptic concentrate orange juice quality changes during commercial processing and storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 30:191-198, 1995.

ROBERTSON, G. L.; SAMANIEGO, C. M. L. Effect of initial dissolved oxygen levels on the degradation of ascorbic acid and browning of the lemon juice during storage. *Journal of Food Science*, 51(1):184-187, 1986.

RODRIGUEZ, M.; SADLER, G. D.; SIMS, C. A.; BRADDOCK, R. J. Chemical changes during storage of an alcoholic orange juice beverage. *Journal of Food Science*, 56(3):475-479, 1991.

RODRIGUEZ, O. Citricultura Brasileira Ed. Fundação Cargill, Campinas, SP, Brasil, 2^o. Ed. V 1, 492p, 1991.

ROUSEFF, R. L.; FISHER, J. F. Determination Of Limonoin And Related Limonoids In Citrus Juices By HPLC. *Analytical Chemistry*, 52:1228-1233, 1980.

SAGUY, I; KOPELMAN, I. J.; MIZRAHI, S. Simulation of ascorbic acid stability during heat processing and concentration of grapefruit juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2:213-225, 1978a.

- SAGUY, I; KOPELMAN, I. J.; MIZRAHI, S. Extent of nonenzymatic browning in grapefruit juice during thermal and concentration processes: kinetics and prediction. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2:175-184, 1978b.
- SATTAR, A.; DURRANI, M. J.; KHAN, R. N.; HUSSAIN, B. H. Effect of packaging materials and fluorescent light on HTST- pasteurized orange drink. *Z. Lebensm. Unters Forsch.*, 188:430-433, 1989.
- SHAW, P. E.; TATUM, J. H.; BERRY, R. E. Nonenzymic browning in orange juice and in models systems. *Dev. Food Carbohydrates*, 1: 91-111, 1977.
- SHAW, P. E. Essential oils. In *Citrus Science and Tecnology*; Nagy, S.; Shaw, P. E., Veldhuis, M. K. Eds., AVI, Westport, CT. 1977, v.1, p. 463-478.
- SHAW, P. E; WILSON, C. W. III. Importance of select volatile components to natural orange, grapefruit, tangerine and mandarin flavors. In *Citrus Nutrition and Quality*; Nagy, S.; Attaway, J. A., Eds., ACS Symposium Series 143. American Chemical Society, Washington DC, 1980, p. 167-170.
- SMOOT, J.; NAGY, S. Effects of storage temperature and duration on total vitamina C content of canned single-strength grapefruit juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(3):417-421, 1980.
- SOLOMON, O.; SVANBERG, U.; SAHLSTROM, A. Effect of Oxygen and fluorescent light on the quality of orange juice during storage at 8°C. *Food Chemistry*, 53 (2): 363-368, 1995.
- STONE, H; SIDEL, J. L. In: *Sensory Evaluation Practices*, (H. Stone and J. L. Sidel, eds.), Academic Press, Inc., Boston., EUA, 1993.
- STONE, H.; SIDEL, J. L; OLIVER, S.; WOOLSEY, A.; SINGLETON, R. C. Sensory evaluation by quantitative description analysis. *Food Technology*, 28(11):24-25, 1974.
- St PAO, P. J.; FELLERS, G. E.; CHAMBEW, M. W. Formulation and sensory evaluation

of fresh squeezed unpasteurized citrus juice blends. *Fruit Processing* , 7:268-271, 1996.

TATUM, J. H.; SHAW, P. E.; BERRY, R. E. Some compounds formed during nonenzymic browning of orange powder. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v. 15, n.5, p. 373-377, 1967.

TATUM, J. H.; SHAW, P. E.; BERRY, R.E. Degradation products from ascorbic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 17(1):38-39, 1969.

TATUM, J. H.; NAGY, S.; BERRY, R. E. Degradation products formed in canned single-strength orange juice during storage. *Journal Food Science*, 40(1):47-50, 1975.

THOMAZINI, M.; FRANCO, M. R. B. Metodologias para análise dos constituintes voláteis do sabor. *Boletim da SBCTA*, 34(1):52-59, jan/jul. 2000

TOMLINSON, J. A; MLOTKIEWICZ, J. A.; LEWIS, I. A. S. Application of capillary electrophoresis to the separation of colored products of Maillard reactions. *Food Chemistry*, 49(2):219-223, 1994.

TRAMMELL, D. J.; DAL SIS, D. E.; MALONE, C. T. Effect of oxygen on taste, ascorbic acid loss and browning for HTST-pasteurized, single-strength orange juice. *Journal Food Science*, 51(5):1021-1023, 1986.

WERNIMONT, D. The aseptic report: Choosing an aseptic process. *Food Engineering*, v.7, p. 87-88, 1983.

WOLFORD, R. W; ATTAWAY, J. A ; ALBERDING, B.; ATKINS, C. D. Analysis of the flavor and aroma constituents of Florida orange juice by gas chromatography. *Journal of Food Science*, v.26, p.320-329, 1963.

WOLFORD, R. W. Effect of temperature of storage in flavor canned orange juice. *Archivos University Florida Gainesville Agricultural Experimental. Station*, v.264, 1966.

YUAN, J. P.; CHEN, F. Degradation of ascorbic acid in Aqueous Solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12):5078-5082, 1998.

YUAN, J. P.; CHEN, F. Simultaneous separation and determination of sugars, ascorbic acid and furanic compounds by HPLC-dual detection. *Food Chemistry*, 64:423-427, 1990.

CAPÍTULO IV

DETERMINAÇÃO DE FURFURAL EM SUCO DE LARANJA PASTEURIZADO

“Se você der ao mundo e aos outros o melhor de si mesmo, você corre risco de se machucar. Dê o que você tem de melhor mesmo assim”.

Madre Tereza de Calcutá

1. RESUMO

Um dos fatores mais importantes nos alimentos industrializados é a preservação de suas qualidades durante a estocagem. Para a indústria cítrica existe o grande desafio de garantir a qualidade do suco de laranja pasteurizado envasado em embalagem cartonada e estocado a temperatura ambiente.

Um dos componentes químicos que degradam durante a estocagem é o ácido ascórbico e a partir dele vários compostos são formados, entre eles o Furfural, que tem sido associado à alteração na qualidade sensorial dos sucos de frutas, principalmente durante estocagem.

O objetivo deste trabalho foi estudar o teor de Furfural em suco de laranja obtido de diferentes variedades de laranja, em diferentes épocas de colheita, assim como, verificar o aumento do conteúdo deste composto no suco de laranja pasteurizado durante a estocagem.

Para processamento do suco foram utilizadas três variedades de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck), Pêra, Valência e Natal. Essas variedades são as mais produzidas no Estado de São Paulo (Brasil) e também as que apresentam maior rendimento em suco. As amostras foram selecionadas em regiões específicas de uma plantação para colheita no início e fim da safra e em duas safras consecutivas. Após a colheita as amostras foram processadas para obtenção do suco pasteurizado, que foi acondicionado em embalagem cartonada (Tetra Pak). Após quatro dias de armazenagem, as amostras foram congeladas para posterior determinação de Furfural. Para o estudo de vida de prateleira, determinou-se o teor de Furfural no suco pasteurizado de laranja Valência estocado por 240 dias. Foram coletadas amostras nos tempos 5, 30, 60, 120, 150 e 210 dias de estocagem a temperatura ambiente.

Para determinação do Furfural, utilizou-se o método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Foi utilizada coluna Supelcosil LC-18 (25cm x 4,6mm/ 5microm). A fase móvel que apresentou melhor eluição foi Acetonitrila/Água (15:85, v/v). A detecção foi feita a 285 nm.

Os resultados indicaram que amostras de início de safra das variedades Pêra e Valência, processadas na primeira safra apresentaram maiores concentrações de Furfural, diferindo de maneira significativa ($p < 0.05\%$) das demais amostras. Essas amostras apresentaram maiores valores de acidez (1.27% e 1.01%) respectivamente, e teores de ácido ascórbico superiores a 40 mg/100mL.

No estudo de estocagem, o aumento do conteúdo de furfural foi significativo e apresentou uma correlação significativa com o tempo de estocagem ($r = 0,98$ $p < 0,05$). Os resultados mostraram uma correlação significativa inversa entre a degradação do ácido ascórbico e o aumento do furfural (Coeficiente de Correlação de Pearson, $r = -0.95$, $p < 0.05$).

2. ABSTRACT

One of the most important factors in industrialized foods is the preservation of their qualities during storage. For the citrus industry the major challenge is to guarantee the quality of pasteurized orange juice packed in cartons and stored at room temperature.

One of the chemical components degrading during storage is ascorbic acid and from this several compounds are formed, including furfural, which has been associated with alterations in the sensory quality of fruit juices, mainly during storage.

The objective of this work was to study the furfural content in orange juice obtained from different varieties of orange at different times of harvest, as well as to verify increases in the pasteurized orange juices during storage.

For juice processing, three varieties of orange were used, Pera, Valencia and Natal. These varieties are produced in the State of São Paulo (Brazil) and are also those presenting the greatest yields in juice. The samples were selected from specific regions of a plantation for harvest at the beginning and end of the harvest, for two consecutive harvests. After harvesting the samples were processed to obtain the pasteurized juice, which was conditioned in cartons (Tetra Pak). After 4 days of storage, the samples were frozen for subsequent determination of furfural. For the shelf life study, the furfural contents were determined in the pasteurized juice from Valencia orange stored for 240 days. Samples were taken after 5, 30, 60, 120, 150 and 210 days of storage at room temperature.

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used for the determination of furfural, using a Supelcosil LC-18 column (25cm x 4,6mm/5micron). The mobile phase presenting the best elution was acetonitrile and water (15:85, v/v), with detection at 285 nm.

The results indicated that samples from the beginning of the harvest for the varieties Pera and Valencia, processed during the first harvest, presented the greatest concentrations of furfural, differing significantly ($p < 0.05\%$) from the other samples. These samples also presented greater values for acidity (1.27% and 1.01%), and ascorbic acid contents greater than 40 mg/100mL.

During the shelf life the increase in furfural content was significant and presented a significant correlation with the storage time ($r = 0.98$ $p < 0.05$). The results showed a significant inverse correlation between the degradation of ascorbic acid and the increase in furfural (Pearson Coefficient of Correlation, $r = - 0.95$, $p < 0.05$).

3. INTRODUÇÃO

O sabor, um fator decisivo na escolha e aceitação de alimentos e bebidas, é uma resposta integrada principalmente a sensação do gosto e do aroma. O gosto é atribuído aos compostos não voláteis nos alimentos, tais como, açúcares, sais, limonin ou cafeína e ácido, determinando os quatro gostos básicos: doce, salgado, amargo e ácido. O aroma é bem mais complexo e é devido a dezenas e centenas de substância voláteis, representantes de várias classes químicas.

O aroma típico das frutas resulta de uma combinação de um grande número de ésteres, que ocorrem em concentrações abaixo de 30 mg/L. Mesmo os compostos voláteis que apresentam baixas concentrações (ug/L) são capazes de influenciar a característica completa do aroma.

Para produzir um suco de laranja com qualidade, o processo deve contemplar qualidades nutricionais e sensoriais. O suco de laranja processado e armazenado, como muitos outros produtos, pode sofrer variações bruscas de temperatura durante a estocagem, estando susceptível a reações químicas que causam variações de cor, sabor, odor e diminuição da qualidade nutricional (Kaanane *et al.*, 1988)

O uso de processo asséptico em produtos cítricos favorece a produção de um suco de laranja com maior qualidade tanto em relação aos aspectos nutricionais como sensoriais (Kaanane *et al.*, 1988). Condições de processamento e estocagem são os principais fatores que afetam a retenção de vitamina C e formação de escurecimento não enzimático e diminuem o valor comercial de produtos cítricos como laranja e grapefruit. (Rassis & Saguy, 1995; Kaanane *et al.*, 1988; Lee & Nagy, 1988a; Marcy *et al.*, 1989; Saguy *et al.*, 1978a, 1978b).

Novas tecnologias tem sido sugeridas para minimizar o efeito da temperatura na qualidade do suco de laranja. Uso de corrente elétrica pulsada e alta pressão (Knorr *et al.*,

1994; Hoover, 1997; Goodner *et al.*, 1999) tem sido estudadas como tecnologias alternativas, entretanto apresentam ainda um custo razoável para serem implantadas.

A ocorrência de furfural e 5-hidroximetilfurfural (HMF) em produtos de cítricos estocados é reconhecido como um indicador da deterioração do produto (Berry & Tattum, 1965; Nagy *et al.*, 1972; Nagy & Randall, 1973, Lee *et al.*, 1986; Kaanane *et al.*, 1988, Rassis & Saguy, 1995).

Muitos autores tem relacionado o aparecimento de “off-flavors” ou odores desagradáveis em suco de laranja e grapefruit e o aumento da concentração de furfural (Dinsmore & Nagy, 1972; Maraulja & Blair, 1973; Marcy & Rouseff, 1984). Substâncias químicas naturais presentes no suco, como a vitamina C, açúcares e ácido cítrico tem sido relacionados ao aumento de furfural em suco de laranja (Nagy *et al.*, 1972; Nagy & Dinsmore, 1974; Kaanane *et al.*, 1988; Rodriguez *et al.*, 1991; Solomon *et al.*, 1995; Yuan & Chen, 1998).

Segundo Espinosa-Mansilla *et al.*(1996), 2-furfuraldeído (FUR) é o principal produto da hidrólise de pentoses. Este composto, assim como, 5-hidroximetil-2-furfuraldeído (HMF), originado a partir da hidrólise ácida de glicoses e frutoses, tem sido relacionado com processos de escurecimento em diversos alimentos. Ambos são usados como indicadores de abuso de temperatura ou tempo de estocagem em alimentos processados.

Furfural tem sido relacionado com alterações de flavor em suco de uva e maçã (Blanco-Gomis *et al.*, 1991).

Maillard e outras reações não enzimáticas que ocorrem durante o processamento e estocagem de produtos alimentícios foram relacionadas a deterioração da cor (escurecimento), aroma e sabor (Albalá-Hurtado *et al.*,1999; Handwerk & Coleman, 1988; Meydav & Berk, 1978; Shaw *et al.*, 1977; Tatum *et al.*, 1975).

Naim *et al.* (1993) estudaram alguns compostos químicos, L-cisteína e N-acetil-L-cisteína e seu efeito na formação de Hidroximetilfurfural (HMF) e Dihidroximetilfurfural (DHMF), considerado um componente que causa mau odor em suco de laranja (Tatum *et al.*, 1975). Os resultados indicaram que a L-cisteína, em concentrações de 0.5-12.3 mM reduzem o escurecimento e a formação de HMF e DHMF, entretanto somente concentrações de 0.5mM de L-cisteína produzem um suco (estocado por 14 dias a 45°C) com aroma similar ao suco original, mantido a 4°C. A L-cisteína reduziu a degradação de ácido ascórbico.

A formação de furfural, a partir da quebra de pentoses ou devido a reação de Maillard, foi encontrada em estudos com vinhos doces e em presença de oxigênio (Cutzach *et al.*, 1999). Os autores relacionaram esse componente com o processo de envelhecimento do vinho na presença de oxigênio.

Vários autores investigaram os produtos de degradação do ácido ascórbico em condições anaeróbicas (Smoot & Nagy, 1980; Robertson & Samaniego, 1986; Rodriguez *et al.*, 1991). Os resultados indicaram que, sob condições anaeróbicas, o ácido ascórbico degrada-se para furfural predominantemente e não em ácido dehidroascórbico.

Yuan & Chen (1998) estudaram a degradação do ácido ascórbico em soluções aquosas em diferentes valores de pH. As soluções foram aquecidas a 100°C por 2 horas e os quatro principais produtos de degradação foram identificados por Cromatografia Líquida. Sob condições anaeróbicas o principal produto de degradação encontrado foi o furfural. Baixos valores de pH favoreceram a formação de furfural, sendo que em pH extremamente baixo (pH = 1.0), furfural foi o produto dominante. Os autores sugeriram que em soluções aquosas, meio ácido e condições anaeróbicas, o furfural é o principal produto de degradação do ácido ascórbico.

Rassis & Saguy (1995) estudaram o efeito da temperatura de pasteurização, e efeito da temperatura e tempo de estocagem na qualidade de suco de laranja concentrado processado assepticamente. Os autores estudaram três temperaturas de pasteurização, 84,

87 e 90°C, por 72 segundos e estocagem por 7 semanas a 32°C e 15 semanas a 22° C . Nenhuma diferença foi encontrada em relação ao escurecimento enzimático e concentrações de vitamina C, sacarose, frutose e glicose, furfural, HMF (Hidroximetilfurfural) e DMHF (Dimetilhidroxifuranona) para as diferentes temperaturas de pasteurização. Os fatores dominantes que afetaram a concentração de vitamina C e escurecimento enzimático foram o tempo e temperatura de estocagem. Um lag-tempo foi observado na formação do escurecimento enzimático, 4 e 1 semana para as temperaturas de 22° C e 32° C respectivamente. O teor de vitamina C decresceu rapidamente a temperatura de 32°(29mg/semana/Litro) C e mais lentamente a 22° C(5mg/semana/Litro). Valores similares também foram observados por outros autores(Marcy *et al.*, 1989) que também verificaram que a velocidade de degradação do ácido ascórbico em sucos processados é maior do que em suco fresco de laranja e que por essa razão devem ser estocados a baixas temperaturas (refrigerados).O teor de furfural encontrado foi menor que 1 mg/L durante o período de estocagem a 22°C e menor que 2 mg/L após 7 semanas a 32° C .Os autores relacionaram o baixo teor de furfural devido a reatividade deste componente com aldeídos, cetonas e amino-ácidos. Os valores de HMF forma bastante elevados após 7 semanas a 32° C, variando de 0 a 10 mg/L neste período.

Em estudos sobre teor de furfural e hidroximetilfurfural, escurecimento não enzimático, concentração de açúcares e alterações sensoriais em pêras em xarope de açúcar com diferentes pH, embaladas em embalagem tipo “Retort pouches”, Kluter *et al.* (1996), verificaram um aumento no escurecimento nas amostras armazenadas as 38° C, pH 3.5 e em relação as amostras armazenadas na mesma temperatura mas com pH 4.0. Esses dados foram correlacionados com a análise sensorial de aparência do produto conduzidas por um painel de provadores. Houve interações significativas entre o tempo/processo/pH do produto para os resultados de cor. Os valores de furfural aumentaram com a estocagem a 38° C, e foram significativamente maiores para pH 3.5 (30-40 mg/L) em relação ao pH 4.0 (10-20mg/L). Para estocagem a 21°C, as concentrações de furfural aumentaram (0 a 10 mg/L) de 0 a 24 meses e posteriormente decresceram até 0 mg/L. Os autores relacionaram esse fato a uma possível interação química entre furfural e amino-ácidos.

Solomon & Svanberg (1995) estudaram o efeito do oxigênio e luz fluorescente na qualidade do suco de laranja reconstituído, pasteurizado e acondicionado em diferentes embalagens (embalagem cartonada, polietileno de baixa e alta transparência e vidro) e estocado a 8°C. Esses parâmetros foram relacionados ao teor de vitamina C (ácido ascórbico e ácido dehidroascórbico), escurecimento não enzimático e formação de furfural e Hidroximetilfurfural (HMF) durante estocagem do suco por 52 dias. Os níveis de oxigênio dissolvido aumentaram em algumas embalagens, durante o tempo de estocagem e foram relacionados significativamente com a degradação do ácido ascórbico e escurecimento do suco estocado. A embalagem cartonada foi a que apresentou maior permeabilidade ao oxigênio. A luz não teve um efeito significativo nestas variáveis. O conteúdo de Furfural aumentou lentamente em todas as embalagens e condições estudadas.

Satar *et al.* (1989) encontraram efeito significativo da luz fluorescente na degradação do ácido ascórbico e na avaliação sensorial de bebida de laranja estocada a temperatura ambiente (25-30°C) por 32 dias.

Uma forte relação entre degradação do aroma do suco de laranja e o teor de furfural tem sido observado (Nagy & Randall, 1973). Entretanto, como não está bem clara essa influência na formação de “off-flavors”, furfural tem sido usado como indicador de odores desagradáveis ou uso de elevada temperatura no processamento do suco.

Maraulja & Blair (1973) estudaram a estabilidade sensorial de suco de laranja enlatado e encontraram um coeficiente de correlação altamente significativo entre a notas de flavor e a concentração de furfural para laranjas Hamlim, Valência e suco de grapefruit. A velocidade de deterioração flavor foi dependente do tempo de estocagem e temperatura.

O método colorimétrico que usa a reação de anilina e ac. acético tem sido usado a muito tempo como metodologia para determinação de furfural (Dinsmore & Nagy, 1972; Nagy & Randall, 1973). A adição de cloreto estanhoso (SnCl_2) e ácido clorídrico (HCl) foi sugerida por Dinsmore & Nagy (1972) para aumentar a intensidade e estabilidade da cor de reação. Como outras substâncias do suco podem reagir com os reagentes propostos,

utiliza-se a destilação para separar o furfural. Após a destilação, usa-se uma alíquota do destilado para reagir com etanol 95% e reagente anilina-ácido acético. O produto da reação é lido em espectrômetro a 515nm.

Lee & Nagy (1986) encontraram boa reprodutibilidade utilizando cromatografia líquida de alta eficiência para quantificação de furfural e hidrometilfurfural em suco de laranja. Rassis & Saguy (1995), seguindo a mesma metodologia dos autores anteriores, estudaram a cinética da qualidade suco de laranja concentrado asséptico durante processamento e estocagem comercial. Encontraram uma alta correlação entre o tempo de estocagem e o teor de hidroximetilfurfural.

Benson *et al.* (1998) investigaram os produtos da reação de Maillard usando isótopos e análise por espectrômetro eletrospray ionização de massa. Os autores elucidaram as dificuldades em se identificar os produtos da reação de Maillard devido a grande variabilidade desde de pequenas moléculas até polímeros extremamente grandes. A diversidade química dessas moléculas, e extrema hidrofobicidade dos produtos finais, tem dificultado a otimização de metodologias e técnicas para caracterização e identificação desses compostos. Tomlison *et al.* (1994) usaram com sucesso a eletroforese capilar para separação de compostos coloridos produtos da reação de Maillard. Os autores obtiveram esses pigmentos através da reação de sistemas contendo soluções de HMF com glicina e glicose com glicina.

Tatum *et al.* (1975) em seus estudos sobre mal odores ou “off-flavors” de suco de laranja enlatado, usaram cromatografia gás-líquida e teste sensorial e após estocagem de 12 semanas a 35°C, encontraram diversos compostos que são reconhecidos como causadores de odores desagradáveis. Os autores usaram coluna de 9x0.25d.i. Carbowax 20M (20% de Chrom-P, 60-80 mesh), fluxo de gás hélio 200mL/min, A programação de temperatura foi de 80°C chegando a temperatura final de 220°C. Furfural e hidroximetil furfural foram identificados mas não quantificados.

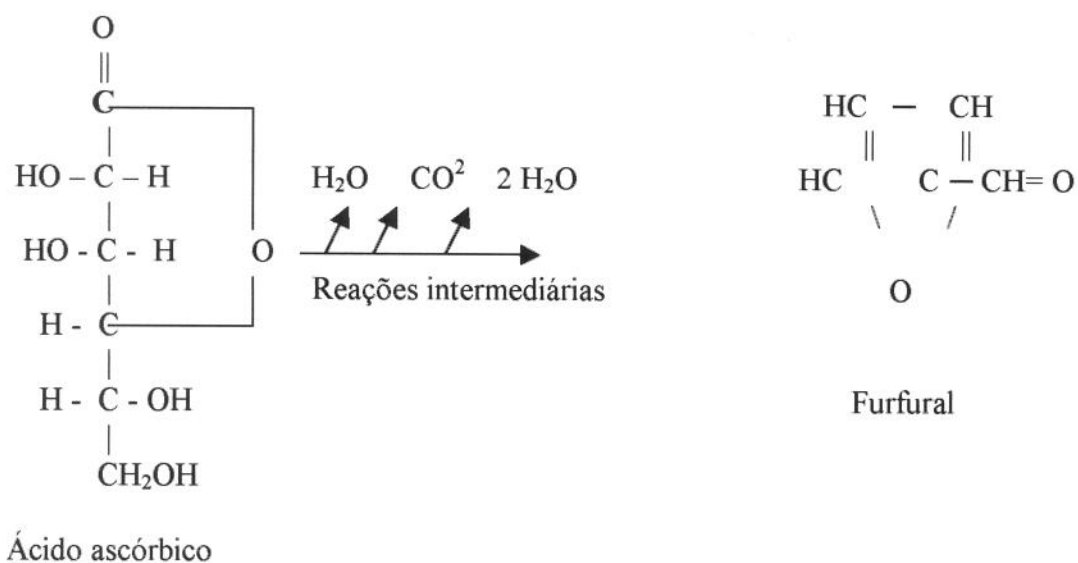


Figura 1: Degradação anaeróbica simplificada do ácido ascórbico em furfural (Cheftel and Cheftel, 1976)

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL

As amostras utilizadas foram de suco de laranja obtido a partir do processamento asséptico, de diferentes variedades de laranja, Natal, Valência e Pêra, obtidas de duas safras consecutivas. A matéria prima foi selecionada, extraído o suco, filtrado, desaerado, pasteurizado (95°C/15seg), e embalado em embalagem asséptica Tetra Brik Square.

4.2. MÉTODOS

Dois métodos de extração do furfural foram testados durante o estudo.

4.2.1. Método de extração 1: Para 10 mL de amostra de suco, 0,5 ml de Carrez I (15% de Ferrocianeto de Potássio) e 0,5 ml de CarrezII (30% de Sulfato de Zinco) foram adicionados, misturados e após 5 minutos foram centrifugados a 3000 rpm por 15 minutos. Um ml de sobrenadante foi passado através de uma pré-coluna C-18 Sep-Pak, Supelco (pré-condicionada com 2 ml de metanol, seguido de 5 ml de água), e lavada com 0,5 mL de hexana. Os componentes desejados, furfural e hidroximetilfurfural, foram eluídos com 3x3ml de acetato de etila seco e o eluato foi evaporado com N₂ em um banho de 30°C. Para aplicação no cromatógrafo, o extrato seco foi ressuscendido em 2 mL de fase móvel.

4.2.2. Método de extração 2: Um volume de 50 mL de suco foi destilado em microdestilador marca Tecnal e 10 ml do destilado foi coletado, filtrado com filtro milipore e utilizado para para aplicação no cromatógrafo. O tempo de destilação foi de 1 minuto.

4.2.3. CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS:

Foi utilizado Cromatógrafo Shimadzu modelo CTO 10 A VP e bomba LC 10AD, coluna Supelcosil LC-18 (25cmx4,6mm/ 5microm), pré –coluna Supelcosil LC-18.

FASE MÓVEL: Para estudo da melhor fase móvel, foi utilizada a mistura de Água:Acetonitrila, testadas nas proporções de 80:20 ; 85:15 e 75:15.

Foi selecionada a fase móvel água:acetonitrila 85:15.

As temperaturas da coluna testadas foram: 27°C ; 30°C; 35°C. Sendo selecionada a temperatura de 30 °C.

Os fluxos 1; 1,3 e 2,0 ml/min foram testados, sendo considerado o fluxo de 1,3 mL como o que apresentou melhor eluição do pico.

Volume de Injeção: 20 µL

Detector de UV – Shimadzu SPD 10A: Leitura a 285nm

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação aos métodos de extração, quando utilizamos a clarificação com reagente de Carrez I e II obtivemos um cromatograma com muitos interferentes. Os picos de 5-hidrometilfurfural e furfural eluíram respectivamente com 4.7 e 7.3 minutos mas sem uma boa resolução, o que dificultou sua quantificação (Anexo IV).

Os cromatogramas de algumas amostras de suco do estudo, utilizando o método por destilação, estão nos anexos V a XV.

Os melhores resultados foram obtidos utilizando-se o método de extração por destilação. A Tabela 1 apresenta os dados de recuperação para o estudo de extração 2 utilizando o método de extração com microdestilador, que apresentou um cromatograma quase sem interferentes, facilitando a identificação do furfural que foi eluído com tempo de retenção de 6.3 a 6.6 minutos. Não houve uma boa recuperação do hidroximetilfurfural, não sendo possível quantificá-lo no experimento.

A melhor condição cromatográfica para eluição do furfural ocorreu utilizando-se a fase móvel água:acetonitrila na proporção 85:15 e fluxo de 1.2 ml/min. A temperatura da coluna que apresentou melhor separação foi a 27°C.

Os resultados da Tabela 2 mostram que entre as variedades, as amostras de início de safra Pêra e Valência 7 e 11, apresentaram maiores concentrações de Furfural, diferindo de maneira significativa ($p < 0.05\%$) das demais amostras. Essas amostras apresentaram maiores valores de acidez titulável (1.27% e 1.01%) respectivamente, e teores de ácido ascórbico superiores a 40 mg/100mL.

Os resultados mostraram que independente da variedade ou período de colheita, os níveis de furfural não foram elevados, variando de 3.03 a 5.59 ug/L, estando abaixo dos valores considerados críticos como indicador de “off-flavors”.

A amostra de suco de laranja da variedade Pêra (início da segunda safra estudada) apresentou o maior valor de furfural e diferiu significativamente das demais amostras. Os resultados da análise descritiva sensorial (Capítulo II) indicaram que esta amostra apresentou pouco aroma e sabor de fresco e acentuado aroma e sabor de passado e cozido, considerados odores desagradáveis em suco de laranja.

TABELA 1: Estudo da Recuperação do Furfural no processo de extração da amostra por destilação.

Amostra	Furfural				
	Inicial(*)	Padrão Adicionado(*)	Esperado mg/L	Encontrado mg/L	Recuperação(%)
1. Suco	0.0020	0.23	0.2320	0.194	84
2. Suco	0.0018	0.23	0.2318	0.181	78
3 Suco	0.0240	0.21	0.2340	0.271	116
4 Suco	0.0220	0.21	0.2320	0.274	118
5 Suco	0.4300	0.45	0.8800	1.051	120
6 Suco	0.4100	0.45	0.8600	0.986	114
7 Padrão**	0.1120	---	0.1120	0.098	87
8 Padrão	0.1120	---	0.1120	0.107	95
9 Padrão	0.5314	---	0.5314	0.504	94
10 Padrão	0.5314	---	0.5314	0.482	90

(*) mg/L. Foram adicionadas concentrações de Furfural conhecidas a amostras de suco de laranja com concentração de Furfural determinadas.

(**) Padrões destilados

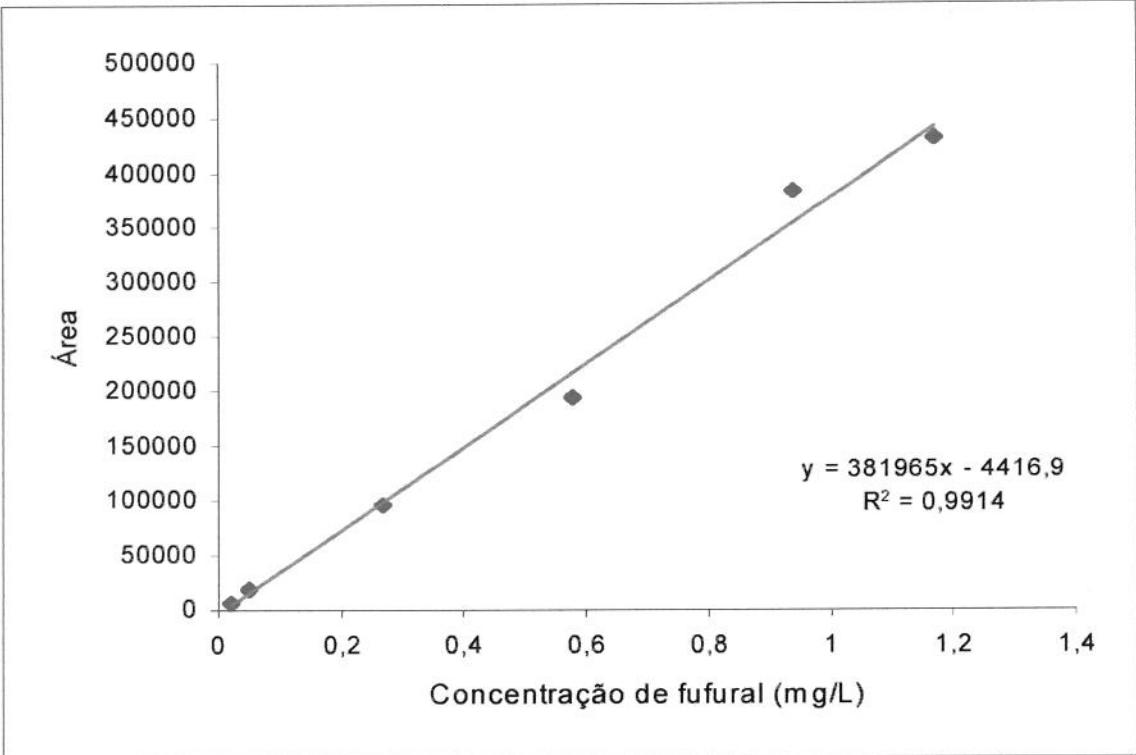


Figura 2: Curva Padrão de Furfural.

TABELA 2: Concentração de Furfural encontrada no suco de laranja das diferentes amostras. Valores expressos em ug/L.

Amostras(**)												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Média (n=3)	4.23 a	---	3.7b	3.36bc	3.46cd	3.03c	5.56e	3.43bc	4.53af	3.84abcd	4.94f	3.84abd
d.p.	0.15	---	0.36	0.06	0.11	0.12	0.15	0.06	0.19	0.23	0.17	0.15

* Os valores com mesma letra, não diferem entre si ao nível de 95% de significância ($p < 0,05$)

**Legenda:

Suco de Laranja Natal	Suco de Laranja Pêra-Rio	Suco de Laranja Valência
1 – Início da Primeira Safra	5 – Início da Primeira Safra	9 – Início da Primeira Safra
2 – Fim da Primeira Safra	6 – Fim da Primeira Safra	10 – Fim da Primeira Safra
3 – Início da Segunda Safra	7 – Início da Segunda Safra	11 – Início da Segunda Safra
4 – Fim da Segunda Safra	8 – Fim da Segunda Safra	12 – Fim da Segunda Safra

As amostras 3, 4, 8, 10 e 12 não apresentarem diferença significativa ao nível de 5% de significância nos valores de furfural. As amostras 1, 9 e 12 não diferiram significativamente no conteúdo de furfural.

Nagy & Randall (1973) em seus estudos, encontraram que níveis de furfural superiores a 55 ug/L de suco, foram considerados significativos ($p < 0.001$) para diferenciar amostras durante a vida de prateleira, quando então a alteração do flavor torna-se perceptível. Dinsmores & Nagy (1972), mostraram que suco de laranja estocado a 30°C, desenvolve uma significativa diferença de flavor e que valores de furfural entre 50-70 ug/L são indicativos de degradação do sabor.

Muitos autores tem relacionado a influência da acidez e do pH na formação do furfural (Kluter *et al.*, 1996; Yuan & Chen, 1998). Valores de pH entre 3.4 e 3.6, favoreceram a formação de furfural em soluções aquosas de ácido ascórbico. Os autores

sugeriram que em soluções aquosas, meio ácido e condições anaeróbicas, o furfural é o principal produto de degradação do ácido ascórbico. Os autores sugeriram que em soluções aquosas, meio ácido e condições anaeróbicas, o furfural é o principal produto de degradação do ácido ascórbico.

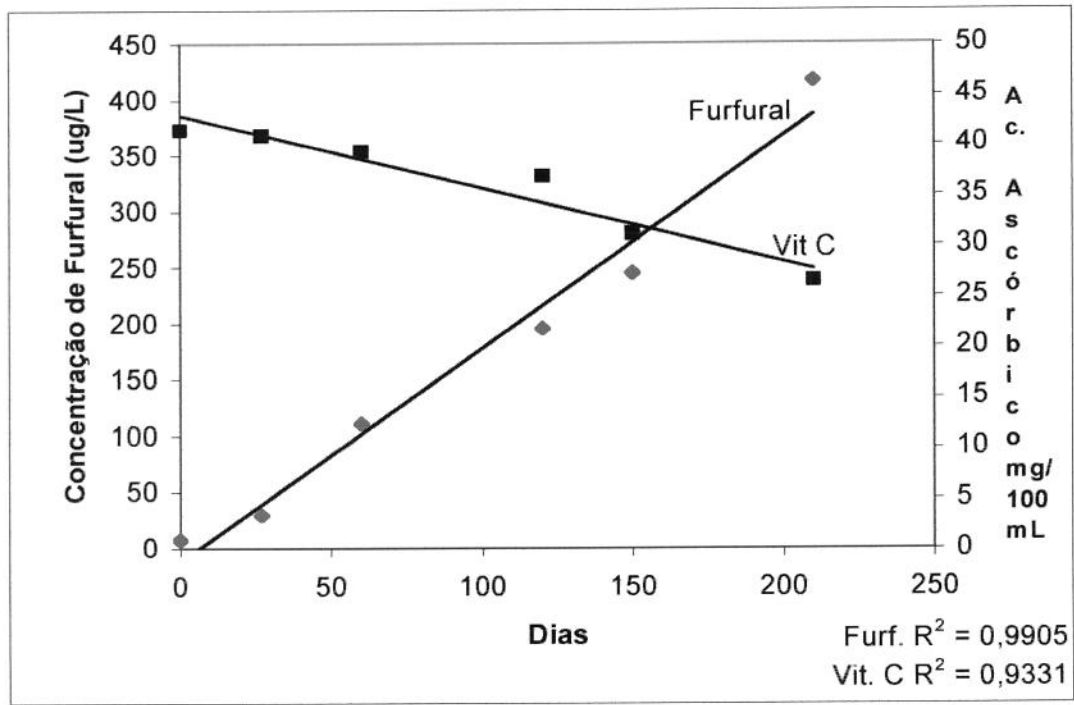


Figura 3: Concentração de ácido ascórbico (mg/100 mL) e furfural (µg/L) durante estocagem do suco de laranja Valência a temperatura ambiente.

A possibilidade de o ácido ascórbico ser o principal precursor da formação do furfural foi relacionada por vários autores (Smoot & Nagy, 1980; Robertson & Samaniego, 1986; Rodriguez *et al.*, 1991; Solomon & Svanberg, 1995; Yuan & Chen, 1998).

Os resultados encontrados são inferiores aos valores encontrados nos estudos feitos por Nagy & Randall (1973), que encontraram concentrações de 9 a 18 ug/L de furfural em suco de laranja embalado em garrafas de vidro.

A Figura 3 apresenta a curva de aumento de furfural e de degradação do ácido ascórbico para suco de laranja valência (Valência do início de safra, segunda safra) estocado por 210 dias. O aumento do conteúdo de furfural foi significativo e apresentou uma correlação significativa com o tempo de estocagem ($r=0.98$ $p<0.05$). Os resultados mostraram uma correlação significativa inversa entre a degradação da vitamina C e o aumento do furfural (Coeficiente de Correlação de Pearson, $r = - 0.95$, $p<0.05$). Muitos autores evidenciaram a possibilidade da formação do furfural a partir da degradação do ácido ascórbico em condições de baixo pH.

Foram encontrados valores de 430 ug/L de furfural, após 210 dias de estocagem a temperatura ambiente (24-27°C), no suco de laranja Valência. Esses valores são superiores aos valores encontrados por Nagy & Randall (1973), que em seus estudos com suco de laranja enlatado, que encontraram valores de 291 ug/L de furfural em suco de laranja estocado a 30°C por 240 dias. Os autores relacionaram que concentrações de furfural superiores a 55 ug/L são indicadores de alteração do *flavor* do suco de laranja.

Elevados conteúdos de furfural foram encontrados nos estudos com suco de laranja valência feitos por Maraulja & Blair (1973). Os autores estudaram o aumento da concentração de furfural em suco de laranja enlatado estocado em diferentes temperaturas. Foram encontrados valores de 2600 ug/L e 500 ug/L de furfural em suco estocado a 26°C e 15°C por 210 dias, respectivamente. Os autores encontraram um coeficiente de correlação inversa ($r=-0,80$ $p<0,01$) entre as notas de flavor do suco e a concentração de furfural. Suco de laranja Valência estocado contendo concentrações de 131 ug/L foram considerados bom pela equipe de degustadores (nota 7) e regular para concentrações de 201 a 593 ug/L.

Mannheim (1985) em seus estudos sobre qualidade sensorial de suco processado assepticamente reportaram que o suco estocado a 15°C manteve boa qualidade

de flavor por 4 meses. Lafuente *et al.* (1979) encontraram uma diminuição do flavor e aceitação sensorial após duas semanas de estocagem a temperatura ambiente. Carlson (1983) relatou que a maioria dos sucos de laranja que foram processados assepticamente apresentaram uma vida de prateleira máxima de 4 meses.

Graumlich et alli (1986) em sua revisão sobre suco de laranja assepticamente embalado, mostraram que diversos trabalhos enfocam alterações químicas durante a vida de prateleira que influenciam na qualidade nutricional (diminuição da vitamina C), cor (principalmente escurecimento não enzimático do suco) e flavor. Esses são fatores limitantes que determinam a vida de prateleira destes tipos de sucos.

6. CONCLUSÕES

O método testado para quantificação do furfural é bastante rápido e reprodutivo e pode servir de suporte para estudos de vida de prateleira de suco de laranja.

Independente da variedade de laranja ou nível de maturação, os níveis iniciais de furfural no suco de laranja pasteurizado, podem diferir significativamente, não sendo, entretanto quantidades consideradas importantes para o paladar do suco.

O aumento do teor de furfural em suco de laranja pasteurizado, embalado em embalagem cartonada Tetra Brik, está correlacionado ao tempo de estocagem e a degradação do ácido ascórbico.

Suco de laranja pasteurizado NFC (*Not From Concentrate*) produzido assepticamente e estocado a temperatura ambiente apresenta um aumento do teor de furfural significativo, sendo que após 70 dias, os valores encontrados podem indicar início de alteração do aroma e sabor, com conseqüente perda da qualidade do suco.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBALÁ-FURTADO, S.; VECIANA-NOGUÉS, M. T.; MARINÉ-FONT, A.; VIDAL-CAROU, M. C. Progress of browning reactions during storage of liquid infant milks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10):4033-4037, 1999

BENSON, L. M.; NAYLOR, S.; TOMLINSON, A. J. Investigation of Maillard reaction products using ^{15}N isotope studies and analysis by electrospray ionization-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 62(2):179-183, 1998.

BERRY, R. E.; TATUM, J.H. 5 Hidroxymethylfurfural in stored Foam Mat Orange powders. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 13(3):588-590, 1965.

BLANCO-GOMIS, D.; GUTIERREZ-ALVAREZ, M. D.; SOPENA-NAREDO, L.; MANGAS-ALONSO, J. J. High-performance liquid chromatographic determination of furfural and hydroxymethylfurfural in apple juices and concentrates. *Chromatography*, 32:45-48, 1991.

CUTZACH, I.; CHATONNET, P.; DUBOURDIEU, D. Study of the formation mechanisms of some volatile compounds during the aging of sweet fortified wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(7): 2837-2846, 1999.

DINSMORE, H. L.; NAGY, S. Colorimetric furfural measurement as an index of deterioration in stored citrus juice. *Journal of Food Science*, 37(3):768-769, 1972.

DINSMORE, H. L.; NAGY, S. Fruits and Fruits products – Improved colorimetric determination for furfural in citrus juice. *Journal Association Official Analytical Chemistry*, 57(2):332-333, 1974.

- ESPINOSA-MANSILLA, A.; DURAN-MERAS, I.; LOPEZ, F. S. Kinetic determination of 2-furfuraldehyde based in a modified Winkler's method. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 44(10):2962-2965, 1996
- GOODNER, J. K.; BRADDOCK, R. J; PARISH, M. E.; SIMS, C. A. Cloud stabilization of orange juice by high pressure processing. *Journal of Food Science*, 4(64):699-700, 1999.
- HANDWERK, R. L.; COLEMAN, R. L. Approaches to the citrus browning problem. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(2):231-236, 1988.
- HOOVER, D.G Minimally processed fruits and vegetables by nonthermal physical treatments. *Food Technology*, 51(6):66-70, 1997.
- KAANANE, A.;KANE, D.; LABUZA, T. P. Time e temperature effect on stability of moroccan processed orange juice during storage. *Journal of Food Science*, 53(5), 1470-1473, 1988.
- KNORR, D.; GEULEN, M.; GRAHL, T.; SITZMAN, W. Food application of high electric field pulses. *Trends Food Science Technology*, 5:71-75, 1994.
- LEE, H. S.; NAGY, S. Quality changes in nonenzymatic browning intermediates in grapefruit juice during storage. *Journal Food Science*, 53 (1):168-172, 1988a.
- LEE, H. S.; NAGY, S. Relationship of sugar degradation to detrimental changes in citrus juice quality. *Food Technology*, 42(1):91-97, 1988b.

- LEE, H. S.; ROUSEFF, R. L.; NAGY, S. HPLC Determination of furfural and 5-hidroxymethylfurfural in citrus juices. *Journal of Food Science*, 51(4): 1075-1076, 1986.
- MARAUJA, M. D.; BLAIR, J. S.; OLSEN, R. W.; WENZEL, F. W. Furfural as an index of flavor deterioration in canned citrus juice. *Proceedings Flórida State Horticultural Society*, 86(2): 270-275, 1973.
- MARCY, J.E.; ROUSEFF, R. L. High performance liquid chromatography determination of furfural in orange juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32(5): 979-980, 1984.
- MARCY, J. E.; HANSEN, A. P.; GRAUMLICH, T. R. Effect of storage temperature on the stability of aseptically packaged concentrated orange juice and concentrate orange drink. *Journal of Food Science*, 54:227-228, 1989.
- MEYDAV, S.; BERK, Z. Colorimetric determination of browning precursors in orange juice products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26 (2): 262-285, 1978.
- NAGY, S.; DINSMORE, H. L. Relation of furfural to temperature abuse and flavor change in commercially canned single strength orange juice. *Journal of Food Science*, 39(4):1116-1118, 1974.
- NAGY, S; RANDALL, V.; Use of furfural content as an index of storage temperature abuse in commercially processed orange juice. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 21 (2): 272-273, 1973.
- NAGY, S.; RANDALL, V.; DINSMORE, H. L. Furfural measurements an index of temperature abuse in stored grapefruit juices. *Proceedings Flórida State Horticultural Society*, 85(2):222-224, 1972.
- RASSIS, D.; SAGUY, S. I. Kinetics of aseptic concentrate orange juice quality changes during commercial processing and storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 30:191-198, 1995.

- ROBERTSON, G. L.; SAMANIEGO, C. M. L. Effect of initial dissolved oxygen levels on the degradation of ascorbic acid and the browning of de lemon juice during storage. *Journal Food Science*, 51(1):184-187, 1986.
- RODRIGUEZ, M.; SADLER, G. D.; SIMS, C. A.; BRADDOCK, R. J. Chemical changes during storage of an alcoholic orange juice beverage. *Journal of Food Science*, 56(3):475-479, 1991.
- SAGUY, I; KOPELMAN, I. J.; MIZRAHI, S. Simulation of ascorbic acid stability during heat processing and concentration of grapefruit juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2:213-225, 1978a.
- SAGUY, I; KOPELMAN, I. J.; MIZRAHI, S. Extent of noenzymatic browning in grapefruit juice during thermal and concentration processes: kinetics and prediction. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2:175-184, 1978b.
- SATTAR, A.; DURRANI, M. J.; KHAN, R. N.; HUSSAIN, B. H. Effect of packaging materials and fluorescent light on HTST- pasteurized orange drink. *Z. Lebensm. Unters Forsch.* 188:430-433, 1989.
- SHAW, P. E.; TATUM, J. H.; BERRY, R. E. Nonenzymic browning in orange juice and in models systems. *Dev. Food Carbohydrates*, 1: 91-111, 1977.
- SMOOT, J.; NAGY, S. 1980. Effects of storage temperature and duration on total vitamin C content of canned single-strength grapefruit juice. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 28(3):417-421.
- SOLOMON, O.; SVANBERG, U.; SAHLSTROM, A. Effect of Oxygen and fluorescent light on the quality of orange juice during storage at 8°C. *Food Chemistry*, 53 (2): 363-368, 1995.
- TATUM, J. H.; NAGY, S.; BERRY, R. E.. Degradation products formed in canned single-strength orange juice during storage. *Journal of Food Science*, 40(1):47-50, 1975.

THOMAZINI, M.; FRANCO, M. R. B. Metodologias para análise dos constituintes voláteis do sabor. *Boletim da SBCTA*, 34(1):52-59, jan/jul, 2000

TOMLINSON, J. A.; MLOTKIEWICZ, J. A.; LEWIS, I. A. S. Application of capillary electrophoresis to the separation of coloured products of maillard reactions. *Food Chemistry*, 49(2):219-223, 1994.

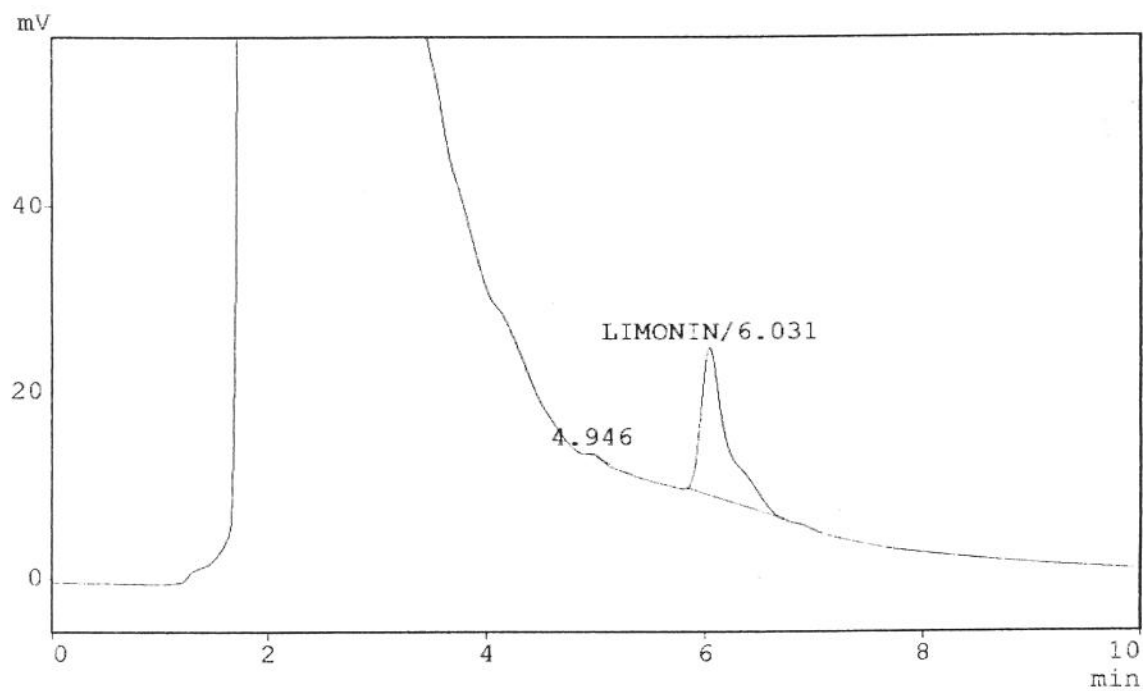
TRAMMELL, D. J.; DAL SIS, D. E.; MALONE, C. T. Effect of oxygen on taste, ascorbic acid loss and browning for HTST-pasteurized, single-strength orange juice. *Journal of Food Science*, 51(5):1021-1023, 1986.

YUAN, J. P.; CHEN, F. Degradation of ascorbic acid in Aqueous Solution. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 46(12):5078-5082, 1998.

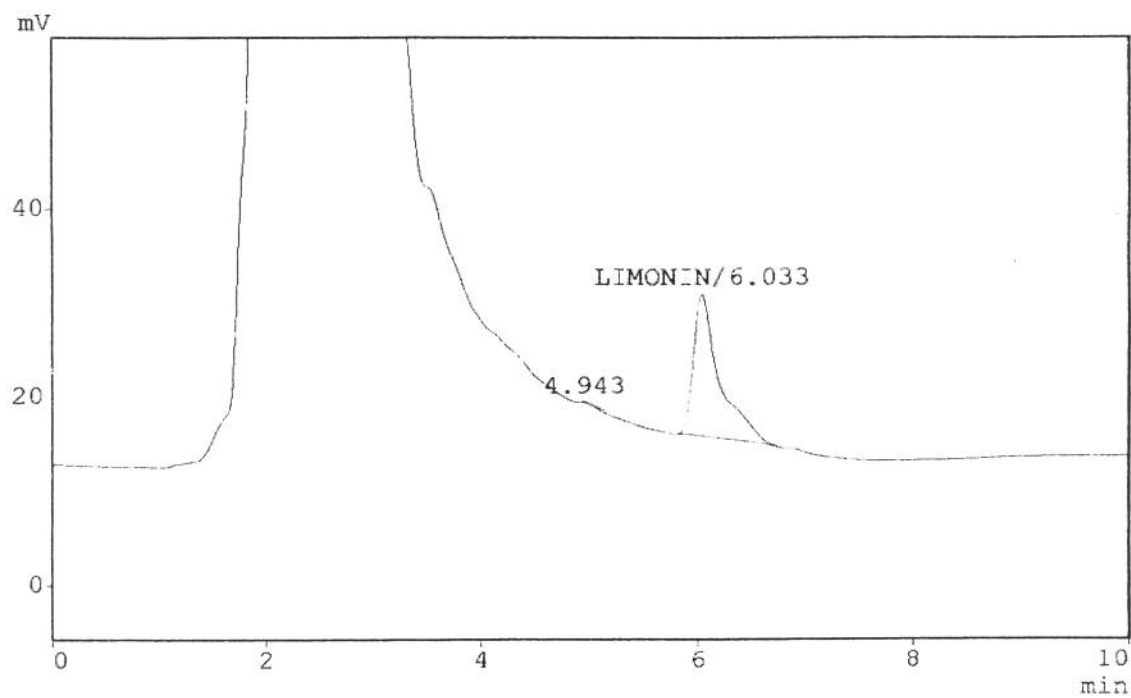
YUAN, J. P.; CHEN, F. Simultaneous separation and determination of sugars, ascorbic acid and furanic compounds by HPLC-dual detection. *Food Chemistry*, 64:423-427, 1999.

ANEXOS

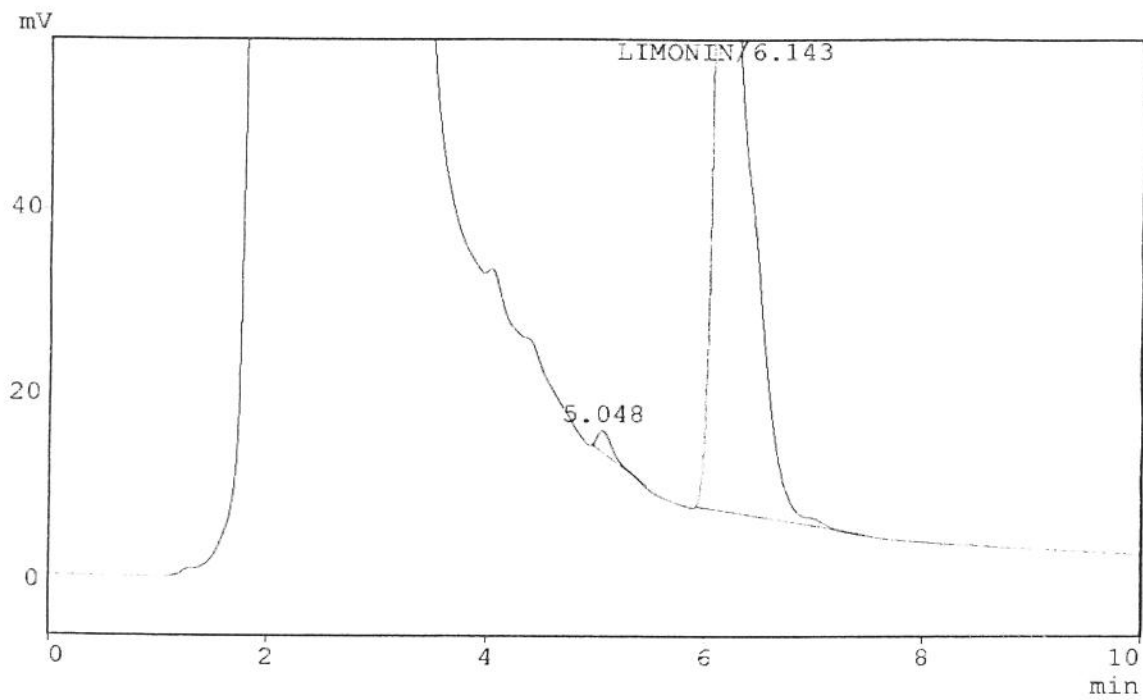
Anexo I. Cromatograma da análise de limonin do suco de laranja Pêra 2 (fim de safra, primeira safra).



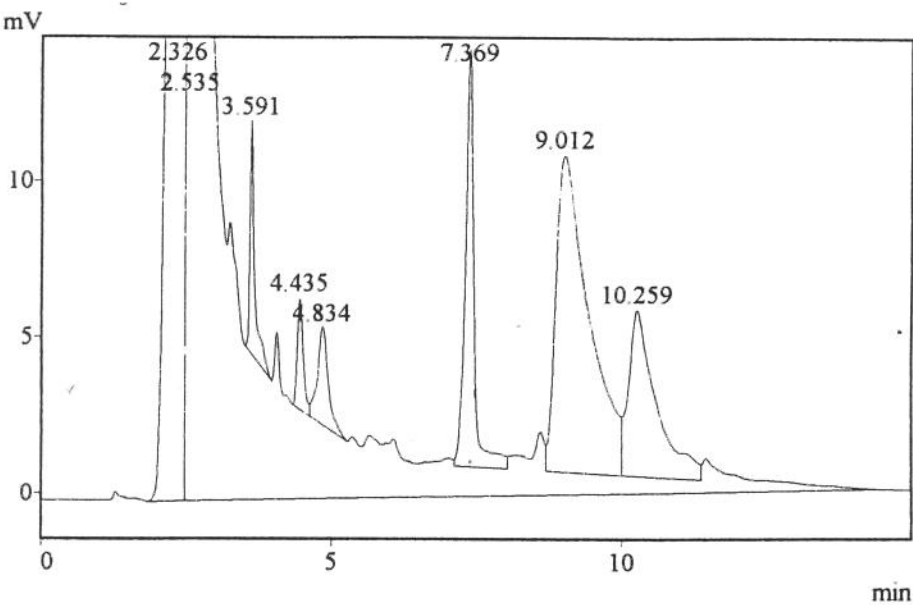
Anexo II. Cromatograma da análise de limonin do suco de laranja Valência 3 (início de safra, segunda safra)



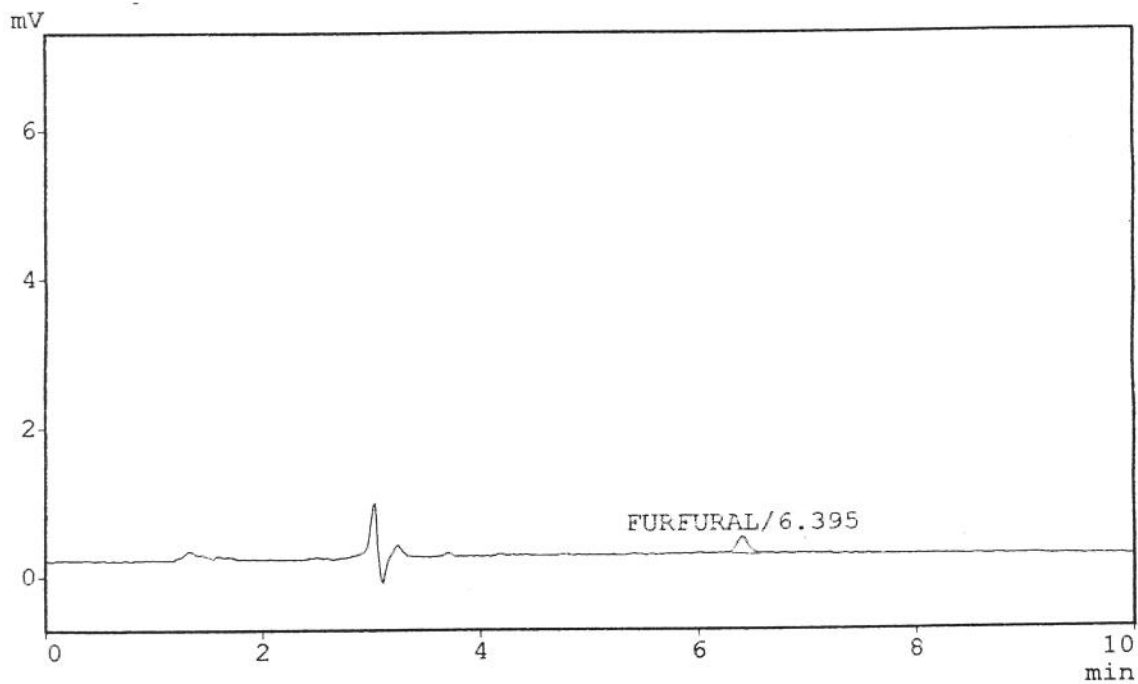
Anexo III. Cromatograma da análise de limonin de suco de laranja pasteurizado e intenso sabor amargo. Amostra não faz parte do estudo.



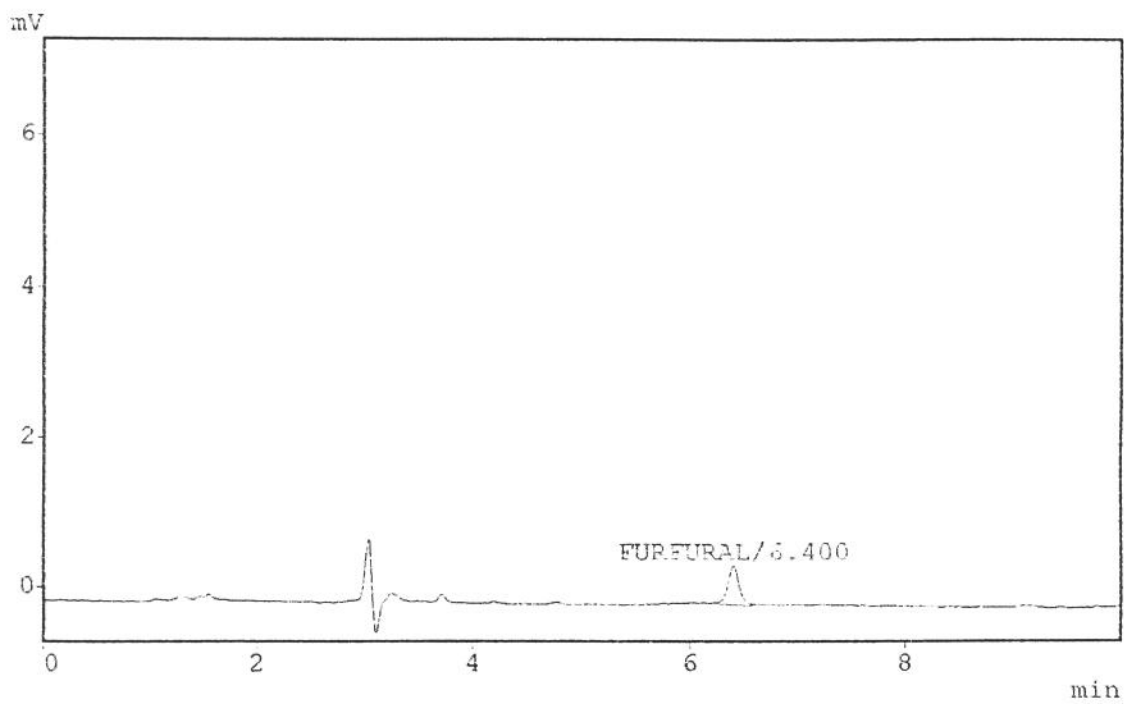
Anexo IV. Cromatograma da amostra de laranja Natal 1, utilizando o método de extração de furfural com reagente de Carrez I e II.



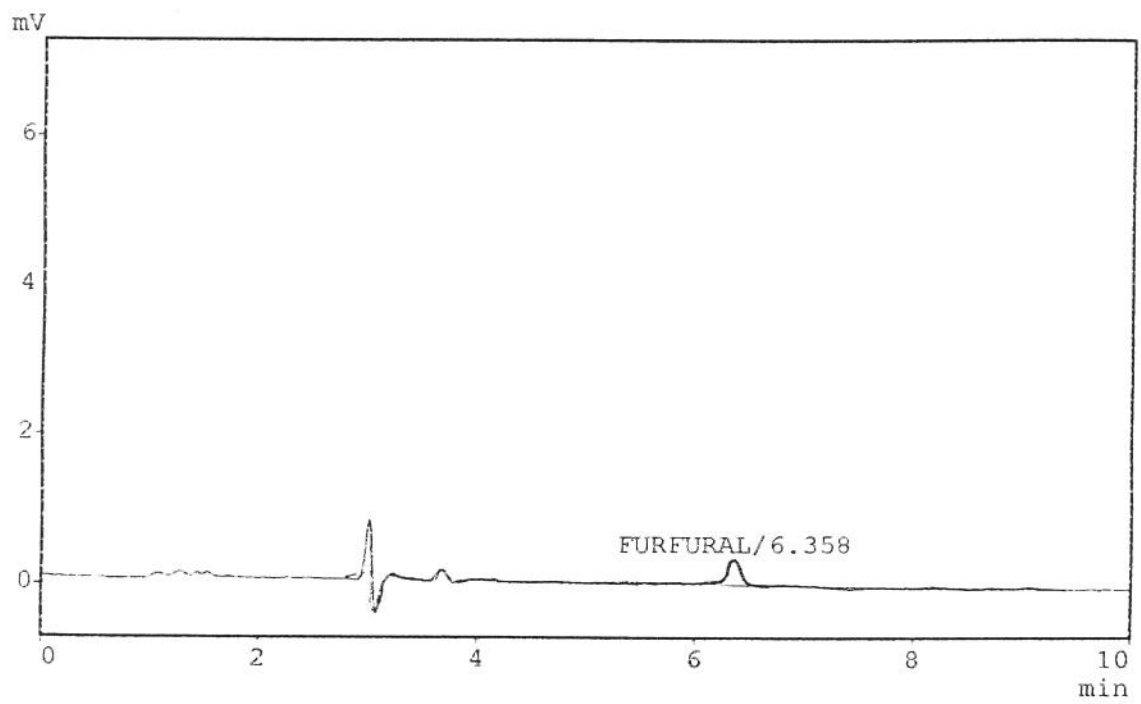
Anexo V. Cromatograma de amostra de suco de laranja da variedade Pêra 2 (fim de safra, primeira safra)



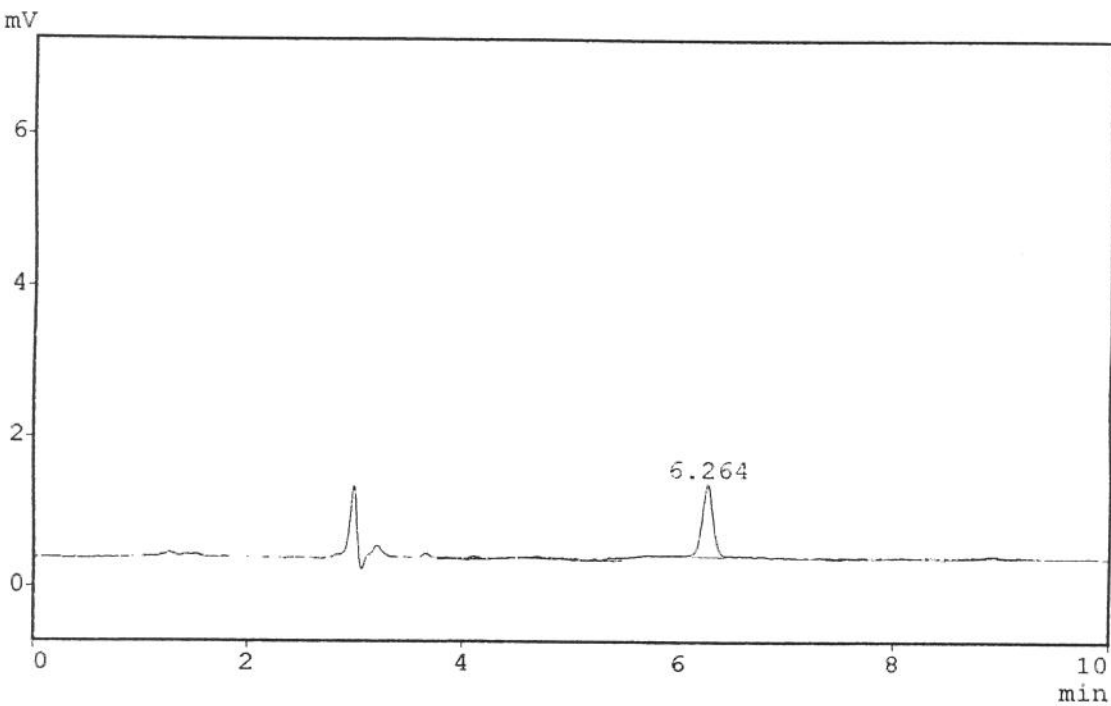
Anexo VI. Cromatograma da amostra de suco de laranja da variedade Natal 3 (início de safra, segunda safra).



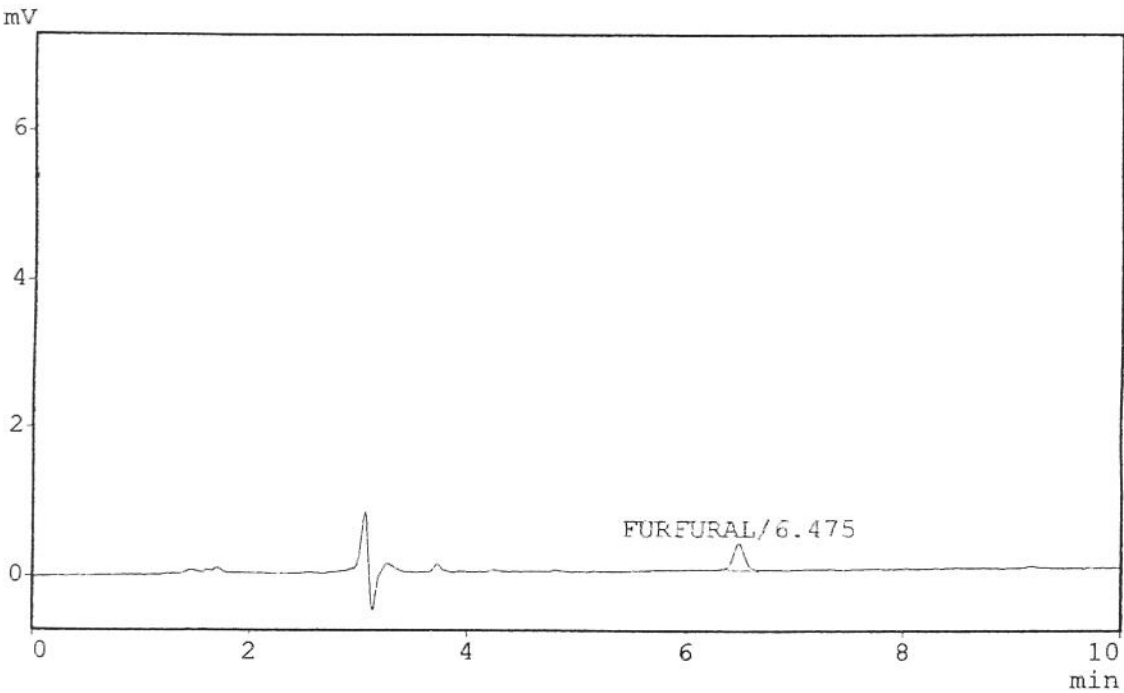
Anexo VII. Cromatograma da amostra de suco de laranja da variedade Natal 4 (fim de safra, segunda safra).



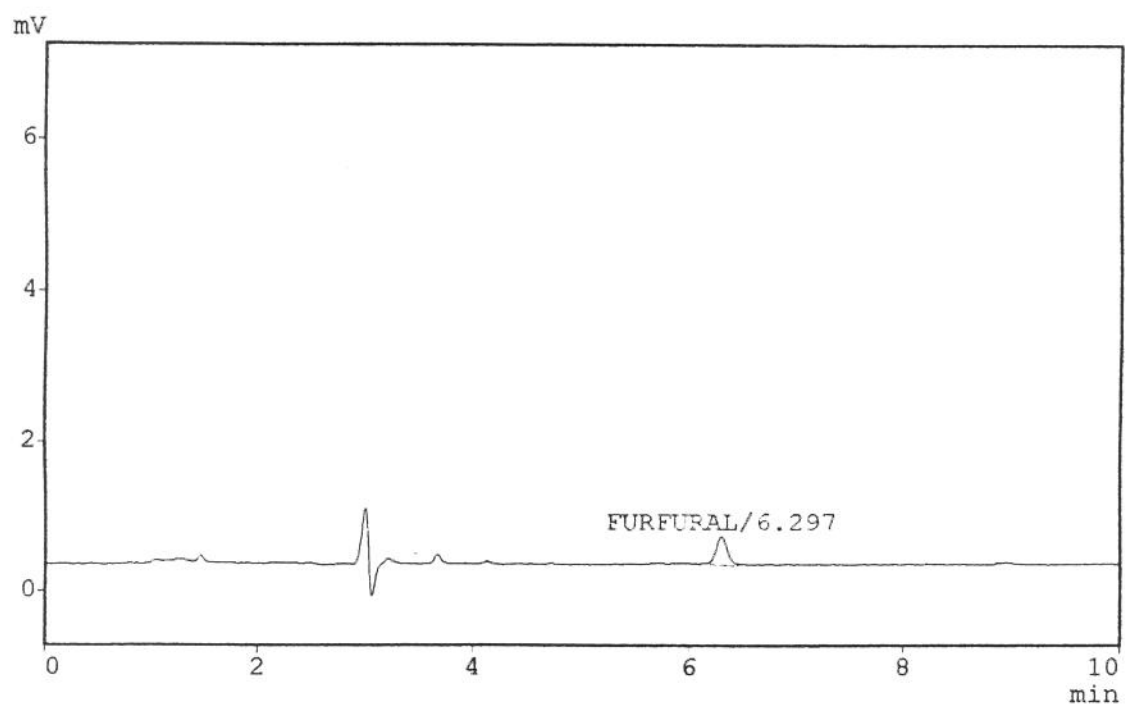
Anexo VIII. Cromatograma da amostra do suco de laranja da variedade Pera 3 (inicio de safra, segunda safra).



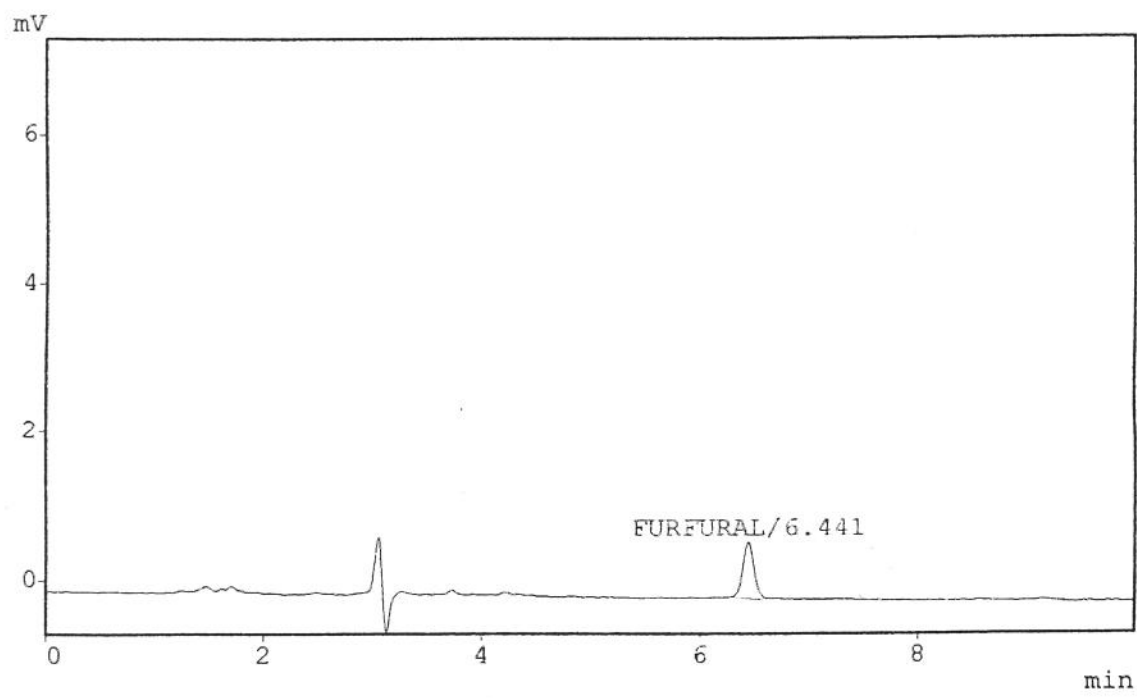
Anexo IX. Cromatograma da amostra de suco de laranja da variedade Valência 1(início de safra, primeira safra).



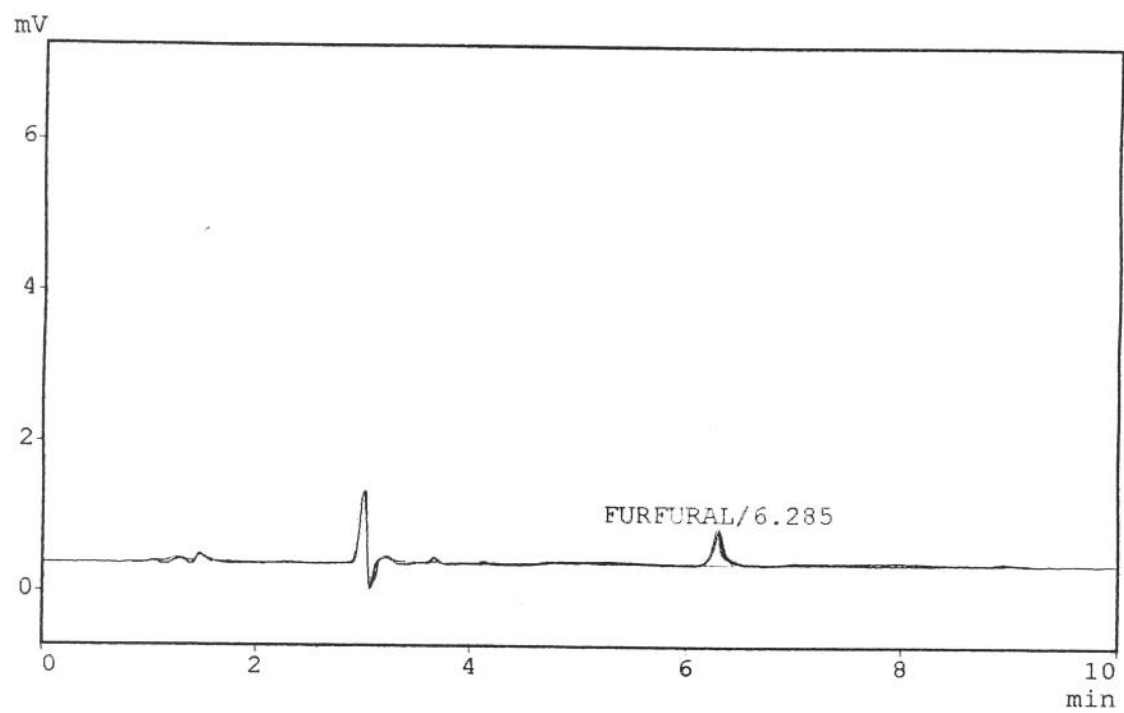
Anexo X. Cromatograma da amostra de suco de laranja da variedade Valência 2 (fim de safra, primeira safra)



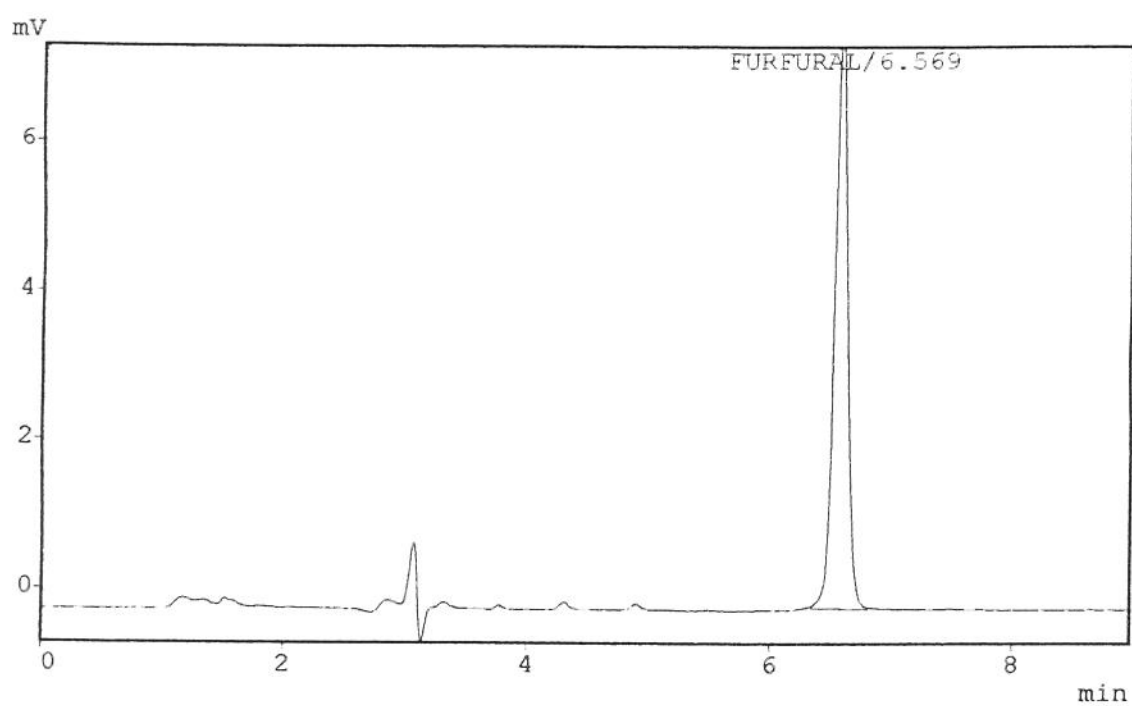
Anexo XI. Cromatograma da amostra de suco de laranja da variedade Valência 3 (início de safra, segunda safra).



Anexo XII. Cromatograma da amostra de suco de laranja da variedade Valência 4 (fim de safra, segunda safra)



Anexo XIII. Cromatograma da amostra de suco de laranja Valência estocado a 27 dias a temperatura ambiente.



Anexo XIV. Cromatograma da amostra de suco de laranja Valência estocado a 60 dias a temperatura ambiente.

