

**Universidade Federal do Espírito Santo
Centro de Ciências Humanas e Naturais
Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal**

Mirella Lima Binoti

**Processamento por Alta Pressão Hidrostática em
Frutas Tropicais: Inativação Microbiológica e
Equivalência Substancial**

**Vitória
2006**

Mirella Lima Binoti

**Processamento por Alta Pressão Hidrostática em
Frutas Tropicais: Inativação Microbiológica e
Equivalência Substancial**

Dissertação realizada no Núcleo de Biotecnologia da Universidade Federal do Espírito Santo - CBM / UFES sob orientação da Professora Dra. Patrícia M. B. Fernandes, submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito Parcial para a obtenção do grau de mestre em Biologia Vegetal.

Vitória

2006

Partes desse trabalho foram suprimidas baseadas na proteção pela Lei de Inovação - Lei nº 10973 de 02 de dezembro de 2004; regulamentada pelo Decreto nº 5563 de 11 de outubro de 2005.

“Por caminhos de pétalas de rosas não se chega ao paraíso... tudo na vida requer um sacrifício...”

Agradecimentos

Agradeço a toda minha família: a meu pai José Augusto, pelo apoio e investimento;

A minha mãe, Eloísa, por todo amor, carinho, atenção e confiança;

A minha irmã Tatiana, por toda paciência e compreensão;

A minha irmã Cynthia, pelo incentivo;

Aos familiares: avós, avô, tias e tios, pela força e reconhecimento.

Agradeço em especial ao Professor Ângelo Gil Rangel, do departamento de engenharia - UFES, pelo primeiro “empurrão” para o mestrado.

À professora Dra. Patrícia M. B. Fernandes, pela credibilidade, orientação acadêmica e exemplo de vida.

À Professora Dra. Ana Cristina N. Chiaradia, do departamento de Ciências Fisiológicas, pela paciência e orientações;

Aos colegas do laboratório: Adriana, Carolina, Fernanda, Fernando, Germana, Glória, Jamile, Jéssica, João, Júlio, Livia, Mariana, Paola, Poliana, Silas, Thais e Umberto; por todo companheirismo, aprendizado e ensinamento recíprocos; e acima de tudo pela amizade verdadeira que criamos, formamos na verdade uma grande família.

Ao Dr. Flávio Dessaune por toda a ajuda com a complicada análise estatística.

Aos professores do programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV), por toda informação transmitida.

À todos os funcionários do Departamento de Fisiologia: Elias, Maria Helena, Nino, Sônia e Evaldo por toda a colaboração direta e indireta, para que esse trabalho fosse concluído.

RESUMO

O consumidor está buscando uma vida saudável, na qual inclui uma alimentação, se destacando o consumo de produtos semelhantes ao alimento natural, que propiciem características visuais, organolépticas e nutricionais, e acima de tudo que seja seguro do ponto de vista microbiológico. A Alta pressão hidrostática (HHP) se destaca, por eliminar microrganismos e enzimas deteriorantes dos alimentos, causando mínimas alterações nos componentes do *flavor* e dos nutrientes. Pois o tratamento de HHP à temperatura ambiente afeta apenas ligações químicas não covalentes; deixando intactas as ligações covalentes (vitaminas e os compostos voláteis) que conferem o sabor dos alimentos.

Esse trabalho demonstra a eficiência da HHP na conservação de polpa de frutas tropicais (mamão e manga), analisando a microbiota e equivalência substancial, durante 28 dias, sob temperaturas de 4 e 28 °C. As polpas foram tratadas com pressões de a MPa por min, e submetidas a análises microbiológicas. O resultado foi um decréscimo no número de microrganismos proporcional ao valor de pressão aplicado. A fim de se obter um valor de pressão e um tempo mínimo de tratamento, selecionamos o valor de MPa e submetemos a polpa a um tratamento por 5 minutos. O valor de pressão de MPa por min, foi eficiente para eliminar os microrganismos contaminantes das polpas de frutas estudadas, por um período de 28 dias armazenadas a 4 e a 28 °C, ao mesmo tempo que as propriedades de equivalência substancial (vitamina C, β-caroteno, açúcares, sólidos solúveis, pH e ácido cítrico) foram conservadas em proporções semelhantes, ou em vantagem, à polpa não tratada. A maioria dos fatores analisados, sob a temperatura de 4 °C demonstraram uma melhor conservação das características naturais em relação as polpas armazenadas a 28 °C. Os resultados obtidos demonstram a eficiência da HHP no processamento de polpas de mamão e manga, e sua vantagem em relação à pasteurização.

Palavras-chave: Alta pressão hidrostática, conservação de alimentos, frutas tropicais, alimentos seguros.

ABSTRACT

The consumers has lived a very healthy life, which includes good meals, mainly with products as much as possible with natural, that gives the visual, nutritional and organoleptic characteristics, and above all that is safe in the microbiologic point of view. From these, we can stand HHP, because it is efficient to eliminate the microorganisms e enzymes that deteriorate the meals, causing minimum changes in the components of the flavors and nutrients. It is due to the treatment of high pressures to room temperature that only affects chemical bonds with non-covalent, while it leads intact the covalent bonds of small molecules, as in the majority of vitamins and voláticos components which establishes a flavor to the fruit.

This work deals with the efficiency of HHP in the conservation of the tropical fruit, (papaya and mangoes), analyzing a large part of factors that interfere in the quality of those juices macrobiotic and the substantial equivalent during 28 days in 4 and 28 °C. The pulps were initially treated with to MPa pressure, for minutes, and they were submitted to microbiological analyses. The result was a down growth of microorganisms proportionally to the value of the pressure applied. In order to obtain values of pressure and a minimum time of treatment, we selected the value of MPa and submitted the pulp to a treatment for five minutes The value of the pressure of MPa for minutes was sufficient to eliminate the microorganisms that contaminate the pulps of the fruit we studied, for a period of 28 days, stored in 4 and 28 °C, at the same time that the proprieties of substantial equivalence (C vitamin, B-carotene, sugars, (solute acids, pH and citric acidic) were kept in equal proportions or in advantage to the non-treated pulp. The majority of the analyzed factors under a 4 °C temperature demonstrated a better conservation of the natural characteristics in relation to the stores pulps to 28 °C. The results obtained demonstrate the efficiency of HHP in processing the pulps of papaya and mango and its advantages regarding the pasteurization.

Key-words: High Hydrostatic Pressure, food conservation, tropical fruit, safe food.

SUMÁRIO

Introdução	14
Revisão Bibliográfica	16
1 A fruticultura no Brasil e no Espírito Santo.....	16
2 Métodos térmicos de conservação de alimentos.....	20
2.1.1 Métodos de conservação pelo calor.....	20
2.1.1.1 Pasteurização.....	20
2.1.1.2 Branqueamento.....	21
2.1.1.3 Tindalização.....	21
2.1.1.4 Defumação.....	21
2.1.2 Métodos a frio.....	22
2.1.2.1 Refrigeração.....	22
2.1.2.2 Congelamento.....	22
2.1.2.3 Supercongelamento.....	23
2.1.2.4 Liofilização.....	23
3 Métodos não térmicos de conservação de alimentos.....	23
3.1 A Alta pressão Hidrostática.....	25
3.1.1 Influência da HHP sobre as proteínas e enzimas.....	27
3.1.2 Efeito da HHP sobre os microrganismos.....	29
3.1.3 HHP e os alimentos.....	32
Objetivos	34
1 Objetivo Geral.....	34
2 Objetivos específicos.....	34
Material e Métodos	35
1 Seleção das frutas.....	35
2 Tratamento da Pressão hidrostática.....	35

3	Análise microbiológica	36
3.1	Bactérias aeróbias totais e gram-negativas	36
3.2	Bolores e Leveduras.....	37
4	Análise de Equivalência Substancial	40
4.1	Análise de sólidos solúveis totais.....	40
4.2	Dosagem de açúcares totais.....	40
4.2.1	Glicídios redutores em glicose.....	40
4.2.2	Glicídios não redutores em sacarose.....	41
4.2.3	Padrão.....	42
4.3	Conteúdo de Vitamina C.....	43
4.4	Conteúdo de β -caroteno.....	43
4.5	Acidez total titulável (ATT).....	44
4.6	Potencial hidrogênionico (pH).....	44
5	Análise estatística.....	46
	Resultados e Discussão	47
1	Análise microbiológica.....	47
2	Análise da Equivalência Substancial	51
2.1	Sólidos solúveis totais.....	51
2.2	Dosagem de açúcares totais.....	52
2.2.1	Glicídios redutores em glicose.....	52
2.2.2	Glicídios não redutores em sacarose.....	57
2.3	Análise do conteúdo de Vitamina C.....	63
2.4	Análise do conteúdo de β -caroteno.....	72
2.5	Acidez titulável.....	78
2.6	Análise do conteúdo de pH.....	81
	Conclusão	87
	Comentário Final	88
	Perspectivas	89
	Referências Bibliográficas	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Determinação de valores de microrganismos segundo a RDC janeiro/2001.....	49
Tabela 2 - Delineamento experimental em blocos casualizados para valores de açúcares redutores (g% de glicose) em polpa de mamão submetidas ao tratamento de pressão hidrostática por min e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28 °C.....	53
Tabela 3 - Delineamento experimental em blocos casualizados para valores de açúcares redutores (g% de glicose) em polpa de manga submetidas ao tratamento de pressão hidrostática por min e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28 °C.....	55
Tabela 4 - Análise de média e variância do conteúdo de g% glicose em relação ao tempo (dias) de armazenamento em polpa de manga pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....	56
Tabela 5 - Análise de média e variância do conteúdo de g% glicose em relação ao tempo e temperatura de armazenamento em polpa de manga pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....	56
Tabela 6 - Análise de média e variância do conteúdo de g% glicose em relação ao tempo de armazenamento em polpa de mamão pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....	57
Tabela 7 - Análise de média e variância do conteúdo de g% glicose em relação a temperatura de armazenamento e tratamento (pressão) em polpa de manga pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....	57
Tabela 8 - Delineamento experimental em blocos casualizados para valores de açúcares não redutores (g% de sacarose) em polpa de mamão submetidas ao tratamento de pressão hidrostática por min e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28 °C.....	58

Tabela 9 - Delineamento experimental em blocos casualizados para valores de açúcares não redutores (g% de sacarose) em polpa de manga submetidas ao tratamento de pressão hidrostática por min e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28 °C.....	60
Tabela 10 - Análise de média e variância do conteúdo de g% sacarose em relação ao tempo de armazenamento em polpa de manga pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....	62
Tabela 11 - Análise de média e variância do conteúdo de g% sacarose em relação a temperatura e tempo de armazenamento em polpa de manga pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....	62
Tabela 12 - Análise de média e variância do conteúdo de g% sacarose em relação a tempo de armazenamento e tratamento (pressão) em polpa de manga pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....	63
Tabela 13 - Análise de média e variância do conteúdo de g% sacarose em relação a temperatura de armazenamento e tratamento (pressão) em polpa de manga pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....	63
Tabela 14 - Delineamento experimental em blocos casualizados para valores do conteúdo de ácido ascórbico / 100 em polpa de mamão submetidas ao tratamento de pressão hidrostática por min e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28 °C.....	64
Tabela 15 - Análise de média e variância do conteúdo de ácido ascórbico / 100 em relação a tempo de armazenamento em polpa de mamão pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.....	65
Tabela 16 - Delineamento experimental em blocos casualizados para valores do conteúdo de ácido ascórbico / 100 em polpa de manga submetidas ao tratamento de pressão hidrostática por min e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28 °C.....	68

Tabela 17 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores do conteúdo μg de β -caroteno / 100 em polpa de mamão submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.....	72
Tabela 18 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores do conteúdo μg de β -caroteno / 100 em polpa de manga submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.....	75
Tabela 19 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores do conteúdo de ácidos totais tituláveis em polpa de mamão submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.....	79
Tabela 20 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores do conteúdo de ácidos totais tituláveis (mg de ácido cítrico/100) em polpa de manga submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.....	79
Tabela 21 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores de pH em polpa de mamão submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.....	82
Tabela 22 - Análise de média e variância pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade na variação do valor médio de pH de polpa de mamão submetidas ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e armazenadas por 28 dias a temperatura de 4 e 28°C.....	82
Tabela 23 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores de pH em polpa de manga submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.....	85

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Esquema dos procedimentos realizados com as frutas desde sua aquisição e processamento até as análises equivalente substancial.....	38
Figura 2 -	39
Figura 3 - Reação de Fehling.....	42
Figura 4 - Reação de Tillmans.....	45
Figura 5 - Análise da sobrevivência de microorganismos em polpas de mamão e manga submetidas a diferentes valores de pressão a temperatura ambiente por 10 min.....	50
Figura 6 - Variação do conteúdo de açúcares redutores da polpa de mamão ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.....	54
Figura 7 - Variação do conteúdo de açúcares redutores da polpa de manga ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.....	54
Figura 8 - Variação do conteúdo de açúcares não redutores da polpa de mamão ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.....	59
Figura 9 - Variação do conteúdo de açúcares não redutores da polpa de mamão ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.....	61
Figura 10 - Variação do conteúdo de vitamina C da polpa de mamão ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.....	66
Figura 11 - Variação do conteúdo de vitamina C em polpa de manga ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.....	66
Figura 12 - Gráfico de dispersão e curva de tendência para as alterações no conteúdo médio de ácido ascórbico na polpa de mamão ao longo de 28 dias de armazenamento.....	67
Figura 13 - Estrutura química do ácido ascórbico (vitamina C) e reação de oxidação produzindo ácido dehidroascórbico.....	71

Figura 14 - Estrutura química do retinol e do β -caroteno.....	74
Figura 15 - Variação do conteúdo de β -caroteno em polpa de mamão ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.....	74
Figura 16 - Variação do conteúdo de β -caroteno em polpa de manga ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.....	77
Figura 17 - Variação do conteúdo ácidos totais tituláveis expressos em mg de ácido cítrico em polpa de mamão ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.....	80
Figura 18 - Variação do conteúdo ácidos totais tituláveis expressos em mg de ácido cítrico em polpa de manga ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.....	80
Figura 19 - Variação no valor de H livres (pH) em polpa de mamão ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.....	84
Figura 20 - Gráfico de dispersão e curva de tendência para as alterações nos valores de pH na polpa de manga.....	84
Figura 21 - Variação no valor de H livres (pH) em polpa de manga ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.....	86

INTRODUÇÃO

A fruticultura no Estado do Espírito Santo é uma das atividades agrícolas mais recentes quando comparada com a cafeicultura e a pecuária. Nos últimos dez anos, o estado ganhou ênfase no cenário econômico em virtude da diversificação agrícola representada pela fruticultura de muitos municípios capixabas (SILVA & GOMES, 2002). O fluxo de produção de frutas no Estado do Espírito Santo está direcionado para venda do produto *in natura* e para a indústria, e a demanda por polpa asséptica e concentrada está em franca expansão nos mercados interno e externo (Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento, Aquicultura e Pesca, acesso em: 29.set.2006).

A demanda por frutas é registrada através de pesquisas ao consumidor que revelam o intenso desejo de consumir frutas tropicais que são preferidas por seus aspectos organolépticos (sabor e cheiro mais adocicados, por exemplo). O aumento no consumo (frutas frescas e processadas, por exemplo, as polpas de frutas) pode beneficiar de forma especial o Brasil. Esses alimentos também merecem ênfase devido a seu grande benefício à saúde (Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento, Aquicultura e Pesca, acessado em: 29.set.2006).

As polpas de frutas são produtos de grande importância para o mercado de alimentos, pois são utilizadas para o consumo direto, como sucos, e também como matéria-prima para a fabricação de outros produtos, como geléias. No entanto, para que esses produtos se tornem viáveis para a comercialização, é preciso que existam métodos de conservação, evitando sua deterioração e aumentando sua vida de prateleira. A vida de prateleira de um produto é definida pelo tempo em que o alimento pode ser conservado em determinadas condições de temperatura, umidade relativa, luz e outros, sofrendo pequenas mas bem estabelecidas alterações, que são, até certo ponto, consideradas aceitáveis pelo fabricante, pelo consumidor e pela legislação alimentar vigente (LIMA, 2002). Cada sistema se deteriora a certa velocidade até que se atinja um ponto inaceitável. A inaceitabilidade não quer dizer que o alimento esteja totalmente deteriorado, mas que o padrão de qualidade pré-estabelecido para ele foi ultrapassado (LABUZA, 1982). A vida de prateleira de um

alimento é basicamente determinada por sua composição, processamento, qualidade inicial, embalagem, temperatura e umidade relativa de transporte e armazenamento. Numerosas mudanças podem ocorrer nos alimentos durante o processamento e a estocagem, quando eles são expostos a diferentes condições ambientais, que podem levar à degradação e conseqüente rejeição pelos consumidores (SINGH, 1994).

Várias são as causas de deterioração dos alimentos, sendo que os microrganismos são uns dos principais agentes responsáveis por danificação e contaminação de comidas. Tratamentos térmicos são usados para inativação de microrganismos em alimentos, principalmente por ser uma tecnologia efetiva, econômica e facilmente disponível. Porém, a conscientização do consumidor quanto à importância de uma dieta à base de produtos naturais, de seu valor nutricional e a tendência cada vez maior de se consumir alimentos processados com as características sensoriais dos *in natura* têm contribuído não só para o aumento do consumo de frutas tropicais, mas também na procura por alimentos que sofram o mínimo de alteração em suas características organolépticas e equivalência substancial originais. Por isso, as pesquisas têm avançado no sentido da utilização de tecnologias que alterem o mínimo possível as características originais (sabor, cor, aroma e composição nutricional) dos alimentos. O uso da alta pressão hidrostática como tecnologia de conservação está em ênfase na indústria alimentícia, pois propicia todos os benefícios, do ponto de vista microbiológico e nutricional, na produção de alimentos seguros (BIGNON, 1997).

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 A fruticultura no Brasil e no Espírito Santo

O Brasil apresenta excelentes condições para se tornar um dos maiores pólos produtivos de frutas tropicais, para o mercado mundial. Seu clima permite a produção de todos os tipos de frutas tropicais e algumas delas proporcionam mais de uma safra por ano (Ministério da Agricultura, 2002).

De acordo com a Organização Internacional para a Luta Biológica (OILB), a produção econômica de frutas de alta qualidade deve priorizar “o uso de métodos ecologicamente mais seguros, minimizando o uso de agroquímicos e seus efeitos colaterais indesejados, pondo ênfase na proteção do ambiente e na saúde humana” (Instrução Normativa nº 20, de 27 de setembro de 2001).

De forma geral, podemos dizer que os sistemas de produção de frutas no Brasil desenvolveram-se a partir de uma lógica produtivista com o uso intensivo de insumos químicos. Com o apoio do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, as cadeias produtivas de pêssego, uva, manga, citros, mamão e banana começaram a ser avaliadas, aprimoradas e expandidas a partir dos seus tradicionais pólos produtivos, através da busca na adequação da oferta a novos padrões de qualidade e sanidade dos mercados externo e interno; preparando essas cadeias para um segundo salto qualitativo: o desenvolvimento dos sistemas de pós-colheita, certificação de origem e rastreabilidade da produção. As redes varejistas foram as primeiras a dar esse segundo salto qualitativo (AGRIANUAL, 2001).

No final da década de 90, começaram a ser desenvolvidos programas próprios para controlar a aplicação de agrotóxicos, padronizar as frutas e inspecionar a fase de pós-colheita, a fim de minimizar danos mecânicos nos produtos. No setor de frutas, legumes e verduras já existem fornecedores que comercializam produtos com selo de garantia de origem (GO) para maçã, limão, manga, uva, alho, batata, banana, cenoura, abacaxi, laranja, mamão papaia. As exigências vão da sanidade do produto

(rastreadabilidade e eliminação dos ingredientes polêmicos), sabor (frescor, maturação), aspecto visual (prazer), proteção ao meio ambiente (respeito ao meio ambiente), até o social (funcionários registrados, treinados, sem menores de idade, higienização) (AGRIANUAL, 2001).

O Estado do Espírito Santo, localizado na região Sudeste do Brasil, ocupa uma área de 46,18 mil km², equivalente a 0,53% do território brasileiro. Todavia, o Estado apresenta uma ampla variação agroambiental, em decorrência basicamente da latitude e do relevo, o que lhe permite produzir uma grande variedade de frutas, destacando-se mamão, coco, banana, abacaxi, maracujá e citros (SILVA & GOMES, 2002).

A fruticultura no Estado do Espírito Santo ocupa uma área plantada de 850 mil km², com uma produção anual da ordem de 1,2 milhões de toneladas, gerando cerca de 50 mil empregos diretos no processo de produção e outros tantos no processo de comercialização. Além disso, proporciona uma renda superior a R\$ 450 milhões/ano, sendo hoje a segunda atividade da agropecuária estadual, só superada pela cafeicultura (INCAPER/LSPA/IBGE. Acesso em: 15.ago.2005).

Do ponto de vista do produtor, os sistemas agroecológicos de frutas também apresentam vantagens, não apenas porque proporcionam um maior valor agregado, mas também porque conduzem a uma maior racionalidade no uso de recursos físicos, naturais e humanos, dentro da propriedade, valorizando-a em sua totalidade pela melhoria de seus diversos aspectos: estético, ambiental, econômico e social (INCAPER/LSPA/IBGE. Acesso em: 15.ago.2005).

Algumas frutas tropicais merecem ênfase devido ao grande benefício à saúde e também por serem largamente consumidas. O mamão é uma fruta típica das regiões tropicais e subtropicais, conhecido por vários nomes: papaia, no México; fruta-bomba, em Cuba; passaraiva, no Nordeste do Brasil. É encontrado durante o ano todo e, dependendo da variedade a que pertence, tem tamanho, peso, sabor e cor diferentes. A polpa, macia e muito aromática, também varia de cor, entre o amarelo-pálido e o vermelho, passando por diversos tons de laranja e salmão. A casca geralmente é fina, bastante resistente, aderida à polpa, lisa, de cor verde-escura,

que vai se tornando amarelada ou alaranjada à medida que o fruto vai amadurecendo. Maduro e ao natural, o mamão constitui um excelente alimento, popularmente conhecido por ser rico em cálcio, fósforo, ferro, sódio e potássio, que participam na formação de ossos, dentes e sangue, evitam a fadiga mental, produzem energia e ajudam a manter o equilíbrio interno do organismo; vitamina A, que protege a pele e a visão; e vitamina C, que fortalece os ossos e as gengivas. Contém ainda papaína, em maior quantidade no fruto verde, uma enzima proteolítica importante para o bom funcionamento do aparelho digestivo. O mamão é eficaz contra asma e diabete; tem propriedades laxativas, calmantes, além de ser purificador do sangue, sendo indicado a pessoas que possuem aparelho digestivo delicado ou irritado (www.todafruta.com.br, acessado em: 20.ago.2006). É uma fruta riquíssima em nutrientes, 100 g de sua polpa possui em média 36 kcal, 0,5 g de proteína, 8,3 g de glicídios, 0,1 g de lipídeos, 20,0 mg de cálcio, 0,4 mg de ferro, 46,0 mg de vitamina C e 37 µg de vitamina A (PINHEIRO et al., 2000).

A manga destaca-se como uma fruta de alto valor comercial em muitas regiões do mundo, principalmente as regiões tropicais. É considerada uma das mais delicadas frutas, além de ter seu valor alimentar reconhecido. A manga é a quarta fruta dos trópicos a alcançar o mercado internacional, depois da banana, do abacaxi e do abacate. As mangas variam muito de tamanho, cor e forma, mas quase todas apresentam polpa suculenta e sabor definido. É excelente fonte de vitamina A e C e apresenta quantidades razoáveis de vitaminas do complexo B, cálcio e fósforo. Sua constituição nutricional média em 100g de polpa de fruta é a seguinte: 65 kcal, 0,5 g de proteínas, 15,4 g de glicídios, 0,2 g de lipídeos, 12 mg de cálcio, 0,8 mg de ferro, 53,0 mg de vitamina C e 210 µg de vitamina A (PINHEIROS et al., 2000). A vitamina A é indispensável à boa visão, auxilia também no crescimento e na manutenção da saúde da pele. A vitamina C auxilia em processos biológicos contra infecções, evita a fragilidade dos ossos e má formação dos dentes; as vitaminas do Complexo B protegem a pele e evitam a queda dos cabelos e; os sais minerais contribuem para a formação dos ossos e dentes. A manga é um excelente purificador do sangue e bom diurético, além de promover a regularidade intestinal. Nas enfermidades das vias respiratórias, como secreções, tosse e bronquite, atua como um ótimo expectorante. Sua ingestão na parte da manhã combate a acidez e outras doenças do estômago (www.todafruta.com.br, acessado em: 20.ago.2006).

2 Métodos de conservação de alimentos

A história da conservação dos alimentos é muito antiga. Na época da pré-história, o homem podia colher alimentos vegetais e caçar animais quando sentia fome. Porém, na vida nômade, eram a caça, a pesca e as frutas silvestres que ele encontrava. Quando passou a se fixar em um local, seu clã aumentava e os recursos alimentares se esgotavam. Então, surgiu a necessidade de plantar e de criar animais. Contudo, a natureza perecível dos alimentos levou a necessidade de criação de métodos de conservação dos alimentos. Assim, várias técnicas foram desenvolvidas e evoluíram no decorrer dos tempos, desde a predominância de métodos naturais do homem até a atualidade, caracterizados pelos métodos evolucionários introduzidos pelas ciências ligadas à tecnologia de alimentos. Os processos de conservação dos alimentos, sejam isolados ou em associação, visam evitar alterações de origem microorgânica, enzimática, física e química. Ou seja, têm um objetivo comum, que é a preservação do alimento para o consumo, e isso está diretamente relacionado ao aumento da vida de prateleira dos alimentos (EVANGELISTA, 2003).

O século XX assinala a implantação da área tecnológica dos alimentos, cuja industrialização em massa só foi possível pela adoção dos métodos de preservação e de conservação. Esses métodos modernos incluem a utilização de processos térmicos e não térmicos, complementados pelo uso de aditivos químicos, conquistas que proporcionaram imensa variedade de produtos de alta qualidade. Todos os métodos utilizados para preservação dos alimentos podem ser considerados de “esterilização”, porém a eliminação completa dos microrganismos dependerá da magnitude e do tempo de cada tratamento e ainda do alimento em questão. Por isso, utiliza-se o termo “comercialmente estéril” (EVANGELISTA, 2003; GAVA, 1984).

2.1 Métodos térmicos de conservação de alimentos

2.1.1 Métodos de conservação pelo calor

Os métodos de conservação por calor (temperaturas superiores a 21 °C) visam à eliminação de microrganismos deteriorantes / patogênicos e, quando isso não é possível, procuram impedir ou retardar seu crescimento. A aplicação desse processo está vinculada ao grau de temperatura, tempo de exposição e às diferentes características dos alimentos a serem tratados (EVANGELISTA, 2003; GAVA, 1984). A intensidade de exposição ao calor, apesar de eficiente para a eliminação de microrganismos, pode resultar em alterações no valor nutricional e modificações na estrutura histológica e de equivalência substancial. Como métodos de conservação por calor podemos citar pasteurização, branqueamento, tinalização, esterilização e defumação (EVANGELISTA, 2003).

2.1.1.1 Pasteurização

Em 1864, o químico francês Louis Pasteur criou o processo que leva seu nome, pasteurização, usado para destruir microrganismos patogênicos em produtos comestíveis (EVANGELISTA, 2003). O avanço científico de Pasteur melhorou a qualidade de vida ao permitir que produtos pudessem ser transportados sem sofrer decomposição. A pasteurização tornou-se o método mais utilizado para conservação de alimentos, incluindo polpas de frutas. Esse método consiste em submeter o produto a altas temperaturas, de até 100 °C, por determinado período de tempo, de modo a garantir as condições de segurança como redução de microrganismos presentes nos alimentos, que podem causar sua degradação e também representar riscos à saúde do consumidor (microrganismos patogênicos). É possível encontrar uma infinidade de processos de pasteurização que combinam diferentes tempos e temperaturas. A escolha do tratamento adequado a ser empregado depende de características do produto e nível de contaminação inicial (EVANGELISTA, 2003).

2.1.1.2 Branqueamento

Método também conhecido por “blanching” ou escaldado, possui características de pré-tratamento, pois precede o início de outros tratamentos térmicos (EVANGELISTA, 2003). É um tipo de pasteurização em que os alimentos são escaldados em banho fervente, geralmente empregado em frutas e hortaliças com a principal finalidade de inativar enzimas (GAVA, 1984).

2.1.1.3 Tindalização

O método de tindalização recebe essa denominação em homenagem ao físico inglês John Tindall. O aquecimento se faz de maneira descontínua, em recipiente fechado, e a temperatura de aquecimento varia entre 60 e 90 °C, seguida de um resfriamento. O produto é armazenado por 24 horas e submetido a um novo ciclo de aquecimento e resfriamento, processo que é repetido de 3 a 12 vezes, no intuito de conseguir total eliminação dos microrganismos. É um processo pouco usado, por ser demorado e custoso, porém apresenta a vantagem de manter os nutrientes e qualidades organolépticas do produto em proporções maiores do que na maioria dos processos térmicos (EVANGELISTA, 2003; GAVA, 1984).

2.1.1.4 Defumação

Atualmente, a defumação não é empregada apenas com a finalidade de conservação, mas também por proporcionar um sabor que agrada ao consumidor. Nesse método, o alimento é submetido ao contato com o calor e a fumaça, provocando perda de água nos alimentos. A perda de água e a ação dos constituintes da fumaça conferem ao alimento verdadeira barreira física e química contra a penetração e a atividade dos microrganismos; essa capa protetora se deve à desidratação que se processa na superfície do produto, à coagulação proteica que ocorre e ao depósito que se forma na camada de resinas, formadas por condensação (EVANGELISTA, 2003).

2.1.2 Métodos a frio

Tratamentos térmicos pelo frio são aqueles que empregam a baixa temperatura (-18 a 10 °C) com o intuito de impedir ou inibir o crescimento de microrganismo, inativar enzimas e outros agentes responsáveis pela deterioração dos alimentos, pois quanto menor a temperatura, menor a velocidade das reações químicas ou da atividade microbiana. São vantajosos em relação ao calor por provocar menor alteração nas características naturais dos alimentos (EVANGELISTA, 2003).

2.1.2.1 Refrigeração

O objetivo da refrigeração é manter a qualidade original do alimento até sua utilização. As temperaturas no processo de refrigeração variam entre -1 e 10 °C, não tendo ação esterilizante sobre os microrganismos e, sim, visando retardar o prosseguimento de atividades contaminantes já instaladas e impedir o surgimento de novos agentes deteriorantes (EVANGELISTA, 2003).

2.1.2.2 Congelamento

O congelamento é um processo em que o alimento é resfriado a temperaturas de -10 a -18 °C. É empregado em alimentos que necessitam de um armazenamento por períodos prolongados (EVANGELISTA, 2003).

2.1.2.3 Supercongelamento

O supercongelamento se caracteriza como um processo de congelamento rápido, aplicado em temperatura de impacto (entre -40 a -50 °C), durante trinta minutos e, depois, mantida a temperatura de -18 °C (EVANGELISTA, 2003).

2.1.2.4 Liofilização

Esse método consiste em desidratar um alimento congelado, impedindo seu descongelamento enquanto se processa a evaporação. É empregada para conservação, permitindo o armazenamento por longos períodos de tempo (EVANGELISTA, 2003).

Na maioria dos métodos tradicionais, em que os alimentos são submetidos a diferentes temperaturas por certo período de tempo, ocorrem muitas vezes alterações indesejáveis. Por isso, os métodos não térmicos vêm sendo estudados na busca por aumentar a vida de prateleira dos produtos sem causar essas reações indesejáveis, por exemplo: formação de *off-flavours* e escurecimento enzimático, além das perdas de vitaminas e minerais. Novos métodos para processamento e estocagem que apresentem a vantagem de manter as características originais, tanto sensoriais quanto nutricionais dos alimentos, principalmente de frutas e hortaliças, estão sendo desenvolvidos e empregados na indústria alimentícia (CAMPOS et al., 2003).

3 Métodos não-térmicos de conservação de alimentos

O interesse por métodos não-térmicos de processamento de alimentos é devido à possibilidade de se obterem alimentos mais semelhantes aos *in natura*, além da manutenção de suas propriedades naturais. Dentre os métodos não-térmicos podemos citar e comentar brevemente: irradiação ionizante, ultra-som sob baixa pressão, campo pulsado e alta pressão hidrostática (MAÑAS & PAGÁN, 2005). A irradiação pode ser usada como um método direto para conservar alimentos e também como complemento para outras técnicas. O emprego da radiação sob o ponto de vista técnico proporciona alimentos com estabilidade nutritiva, condições de sanidade e de mais longo período de armazenamento. Por isso, vários países se interessam pela irradiação de alimentos, investindo em pesquisas, incrementando novos conhecimentos e aplicando, na prática, esse método (EVANGELISTA, 2003).

A radiação ionizante é utilizada para satisfazer alguns objetivos principais: esterilização, desinfecção e inibição de germinação de esporos de microrganismos

(BORGSTRON, 1968). O processo de irradiação envolve a aplicação de ondas eletromagnéticas ou feixes de partículas nos alimentos. A aplicação comercial de radiação ionizante em tratamento de comidas foi iniciada em 1980, mas o sucesso tem sido impedido por interesses do consumidor. A opinião pública considera esses tipos de alimentos perigosos, pela tecnologia utilizada, ou susceptível de mascarar eventuais estados de deterioração. No entanto, especialistas reconhecem que a irradiação, tal como é atualmente praticada, não pode tornar os alimentos radioativos, pois se trata de doses ínfimas, mas que são suficientes para destruir os microrganismos patogênicos. Por outro lado, a fonte radioativa pode ser um fator de perigo, principalmente devido a erros de manuseio e estocagem do produto radioativo (SANTOS, acesso em: 28.ago.2006).

O ultra-som é definido como ondas sonoras com frequência acima do limiar da audição humana (> 16 kHz). Entretanto, o ultra-som foi inicialmente descartado para preservação de alimentos por provocar fraca ação letal nos microrganismos contaminantes (MAÑAS & PAGÁN, 2005).

Outro método, o campo pulsado, consiste em aplicação por curta duração (1-100 μ s) de alto campo elétrico (10-50 kV cm⁻¹) no alimento colocado entre dois eletrodos. Assim como o ultra-som, essa tecnologia ainda não está sendo usada comercialmente para a preservação de alimentos (MAÑAS & PAGÁN, 2005).

A alta pressão hidrostática (HHP- *High Hydrostatic Pressure*) envolve a aplicação de pressões de 100 a 1000 MPa (mega pascal). O primeiro estudo sobre a letalidade provocada pela HHP foi conduzida no final do século 19, mas sua aplicação nos procedimentos comerciais começou nos últimos anos (SMELT, 1998). Esse método será mais bem discutido adiante.

O sucesso atribuído aos novos modelos tecnológicos para preservação de alimento está baseado no progresso do desenvolvimento dos mecanismos de inativação. Um adequado conhecimento sobre a fisiologia dos microrganismos em relação a agentes inativadores é essencial para o desenvolvimento de alimentos seguros. Isso é necessário para entender o efeito de fatores envolvidos na resistência e também para identificar fatores críticos e pode ajudar a interpretar a cinética da inativação e o desenvolvimento de modelos matemáticos baseados em parâmetros com sentidos

biológicos e, conseqüentemente, mais úteis e capazes de provocar inativação microbiológica em largas condições (MAÑAS & PAGÁN, 2005).

3.1 A alta pressão hidrostática

Pressão é definida como a força a que um objeto está sujeito, dividida pela área da superfície sobre a qual a força age ($P = F/A$). A unidade de pressão apropriada no sistema MKS (metro-quilograma-segundo) é o pascal (Pa). No entanto, a pressão pode ser medida em outras unidades (atmosferas, libras por polegada quadrada, milibars, etc). A pressão atmosférica é a pressão exercida pelo peso de ar que paira sobre nós. O ar na atmosfera alcança uma altura enorme. Logo, mesmo que sua densidade seja baixa, ele ainda exerce uma grande pressão. Ou seja, a atmosfera exerce uma força de cerca de $1,0 \times 10^5$ N em cada metro quadrado na superfície da Terra. Isso é um valor muito grande, mas não é notado porque geralmente existe ar, tanto dentro quanto fora dos objetos, de modo que as forças exercidas pela atmosfera em cada lado do objeto são contrabalançadas. Somente quando existem diferenças de pressão em ambos os lados é que a pressão atmosférica se torna importante (BERTULANI, acesso em: 20.ago.2006) .

Muitos organismos aquáticos conseguem viver sob pressões hidrostáticas extremamente altas, apesar dos profundos efeitos exercidos pela pressão numa variedade de estruturas e funções celulares (ZIMMERMAN, 1971). Além dos ambientes aquáticos, células de organismos terrestres ocasionalmente estão submetidas a altas pressões. Componentes de determinados tecidos, como articulações em animais ou tecidos vasculares em plantas, podem experimentar pressões relativamente altas de até 20 MPa e 100 MPa, respectivamente (ELO *et al*, 2004; PETERS, *et al.*, 2000). Os estudos sobre efeitos e aplicações de altas pressões hidrostáticas têm ganhado uma grande importância biotecnológica na última década devido principalmente a sua aplicabilidade na descontaminação de alimentos e produção de vacinas, entre outros (ROTHSCHILD e MANCINELLI, 2001).

O tratamento à alta pressão foi reconhecido como uma técnica potencial de preservação há aproximadamente um século, desde os trabalhos de Hite em 1899, quando foi demonstrada a eficiência desse método para evitar a esporulação de microrganismos em leite (SMELT, 1998). A alta pressão foi aplicada por muitos anos na produção de cerâmicas, materiais compostos, diamante artificial e plásticos. Desenvolvimentos tecnológicos aumentaram as possibilidades de aplicação comercial na área alimentícia. O processamento HHP consiste em submeter o produto à alta pressão dentro de um vaso pressurizado, utilizando um meio que transfere a pressão ao produto. Esse método baseia-se em dois princípios gerais: 1- Princípio de Le Chatelier, segundo o qual qualquer fenômeno (transição de fase, mudança de conformação molecular ou reação química), acompanhado por uma redução de volume, é favorecido pelo aumento da pressão (e vice-versa); 2- Princípio isostático, que indica a pressão transmitida de uma forma uniforme e instantânea através de uma amostra biológica. O processamento de alta pressão é, portanto, independente do volume e da forma da amostra, diferentemente dos processos térmicos e de outras tecnologias de preservação (CAMPOS et al., 2003; TORRES et al., 2005).

Relatando melhor como o processo é aplicado, podemos dizer que ele pode ocorrer em vários tipos de meios fluidos hidráulicos, mas a água é preferencialmente usada, por ser de fácil operacionalização e ser compatível com produtos alimentares. Existem muitas evidências de que a compressão de gases pode ser usada para a preservação de alimentos, mas do ponto de vista dos engenheiros, elas existem apenas em compartimentos com baixa pressão (< 50 MPa), por causa da extrema energia contida nesses sistemas e devido a perigos associados a explosão do vaso de compressão. Líquidos como a água são relativamente incompressíveis e demandam muito menos energia em sua compressão nesse estado físico, quando comparados com os gases. Portanto, o risco de explosão é grandemente reduzido usando um meio líquido para pressurização. Alimentos líquidos podem ser comprimidos diretamente em vasos de pressão ou em líquidos, e/ou alimentos sólidos podem estar contidos em vasos flexíveis imersos em fluidos hidráulicos durante o processo (EARNSHAW, 1996).

O principal benefício da tecnologia da alta pressão é seu menor efeito deletério em composição, sabor e características nutricionais. O tratamento com altas pressões a temperatura ambiente afeta apenas ligações químicas relativamente fracas (ponte de hidrogênio, ligações hidrofóbicas e iônicas), causando a ruptura da membrana celular dos microrganismos e alterando a estrutura de enzimas, ocasionando destruição e desnaturação, respectivamente, enquanto deixa intactas as ligações covalentes das moléculas pequenas, como a maioria das vitaminas e os compostos voláteis, que conferem sabor dos alimentos (SMELT, 1998). Por isso, é vantajosa e tem sido escolhida como método de conservação de alimentos, pois causa mínima degradação no *flavor* e nos nutrientes, se comparada ao tradicional método térmico da pasteurização (PARISH, 1998); onde tanto ligações covalentes como não-covalentes são afetadas, além de a aplicação dessa tecnologia em produtos de frutas e vegetais oferecer uma chance de produção de alimentos com alta qualidade, segura e com maior satisfação e incremento na qualidade de vida e saúde do ser humano (BUTZ & TAUSCHER, 1998; GOULD, 1996; HAYASHI, 1992; POLYDERA et al., 2004).

A HHP possibilita conservação de substâncias antioxidantes naturais. Muitos estudos epidemiológicos recentes demonstram que o maior consumo dessas substâncias está relacionado à redução de danos oxidativos provocados por radicais livres e também na redução de desenvolvimento de diferentes tipos de câncer, doenças cardiovasculares e neurológicas (POLYDERA et al., 2003). Outro fator importante dessa tecnologia é a habilidade para conservar o alimento sem necessidade de utilização de aditivos químicos (DELIZA et al., 2005).

3.1.1 Influência da HHP sobre as proteínas e enzimas

As proteínas são mantidas por interações entre os aminoácidos e pelas interações com o solvente ao redor. Mudanças nos fatores externos, como pressão e temperatura, podem perturbar o complexo das interações moleculares e entre solvente-proteína e podem, conseqüentemente, levar ao desdobraimento e/ou à desnaturação da cadeia de peptídeos. Os rearranjos estruturais presentes nas proteínas são governados pelo princípio de Lê Chatelier. A redução do volume

acompanhando a desnaturação surge da formação ou ruptura de ligações não-covalentes e dos rearranjos das moléculas do solvente (HENDRICKX et al., 1998). No entanto, sob baixas temperaturas ($< 25\text{ }^{\circ}\text{C}$), a pressão pouco afeta as ligações covalentes, mantendo intacta a estrutura primária das proteínas (HENDRICKX et al., 1998) e, portanto, não interferindo no valor biológico do alimento. Mudanças significantes na estrutura terciária são mais observadas em pressões maiores que 200 MPa, visto que essa estrutura é mantida por interações iônicas e hidrofóbicas. Em geral, pressões maiores que 300 MPa à temperatura ambiente causam desnaturação irreversível (HENDRICKX et al., 1998).

Uma significância particular da pressão é sua aparente ligação sobre as proteínas, em especial as enzimas, pois apresentam atividade biológica, e que possuem, em sua estrutura física, um local chamado sítio ativo, que precisa estar intacto para que essas proteínas possuam função. Esse local é mantido pela conformação tridimensional da molécula. Pequenas alterações no sítio ativo podem levar a uma perda da atividade enzimática. Como a desnaturação protéica, provocada pela HHP, é associada a mudanças conformacionais, essas alterações podem mudar a função da enzima (HENDRICKX et al., 1998).

Algumas dessas proteínas estão presentes em alimentos, incluindo muitas que afetam a qualidade do produto, como proteases, lipases, estearases. Algumas enzimas (ex.: fosfatases) podem ser destruídas por pressões de 400 a 800 MPa. Existem evidências de que a pressão provoca mudanças na reação cinética das enzimas, por provocar alterações na interação enzima-substrato, mas esse relato precisa ser mais bem investigado. A inativação é decorrente da alteração das estruturas das proteínas que sofrem dissociação ou formam complexos de macromoléculas, além da conformação de cadeias. Com isso, pode-se concluir que as enzimas que afetam a qualidade dos alimentos podem permanecer ativas durante e depois do processamento do alimento, dependendo de sua conformação e valor de pressão aplicado. Em alimentos, a atividade de algumas enzimas é considerada benéfica à qualidade; a retenção da atividade, após um ciclo da pressão, pode ter o efeito antimicrobiano e, portanto, ser considerada como desejável. Pressões na ordem de 100 MPa podem provocar ativação enzimática, enquanto pressões altas induzem à inativação. E, ainda, podemos mencionar que, se a pressão é capaz de

modificar propriedades funcionais e estruturais das proteínas, isso poderia ser usado para criação de produtos com texturas e sabor diferenciados (EARNSHAW, 1996).

3.1.2 Efeitos da HHP sobre os microrganismos

Em geral, o processamento de alimentos por pressões entre 200 e 600 MPa (método hidrostático) inativa leveduras, fungos e a maioria das células vegetativas de bactérias, incluindo patógenos infecciosos de alimentos. Entretanto, a grande maioria dos esporos de bactérias e fungos não são inativados por pressões até 1000 MPa (GOULD, 1996; SMELT 1998). Esporos também podem germinar usando-se altas pressões, e disso surgem algumas propostas sobre utilizar ciclos de pressões ou combinar mecanismos de inativação para induzir a germinação, produzindo células vegetativas sensíveis (EARNSHAW, 1996).

Segundo BIGNON (1997), o princípio de eliminação dos microrganismos é o fato de a alta pressão provocar destruição de membranas das células. Várias mudanças morfológicas são observadas com o aumento da pressão, dentre as quais estão compressão dos vacúolos gasosos, alongamento da célula, separação da membrana celular com formação de poros, modificações no citoesqueleto, modificações no núcleo e em organelas intracelulares e ainda desnaturações proteicas na membrana, modificando a permeabilidade e a seletividade da membrana plasmática, podendo resultar na morte da célula.

Leveduras *Sacharomyces cerevisiae* têm sido utilizadas como modelo para vários estudos relacionados a danos celulares. A viabilidade de leveduras durante o tratamento de pressão hidrostática diminui com valores crescentes de pressão e este efeito é mais pronunciado quando as células estão submetidas a pressões acima de 100 MPa. A 220 MPa, todas as células selvagens são mortas. Uma pressão de 50 MPa não é suficiente para promover alterações deletérias na morfologia de células de leveduras. As células de leveduras na fase estacionária, em que estão em crescimento interrompido e se submetem a uma variedade de mudanças morfológicas e fisiológicas, são mais resistentes à pressão do que as células vegetativas (FERNANDES, 2005). O mesmo ocorre em bactérias que, na

forma vegetativa, apresentam maior sensibilidade à pressão que a forma esporulada. Mais ainda, bactérias no início da fase logarítmica são normalmente mais sensíveis a pressão do que as células em fases estacionária, lag ou de letalidade (HOOVER et al., 1989).

Dessa forma, a aplicação mais comum da tecnologia de alta pressão na preservação de alimentos é naqueles de baixo pH, como os sucos de frutas, em que a sobrevivência dos esporos não causa maiores problemas, por sua inabilidade em se desenvolver em tais condições (GOULD, 1996). A forma da bactéria também influencia na resistência à pressão; em geral, cocos são mais resistentes do que bastonetes, pois possuem uma maior resistência mecânica (CAMPOS et al., 2003).

Em geral, as bactérias gram-positivas são mais resistentes à pressão do que bactérias gram-negativas. Tal fato é explicado devido a sua parede celular ser mais espessa, contendo maior quantidade de peptidoglicanos se comparada com as bactérias gram-negativas. Uma membrana mais rígida confere uma maior fragilidade diante da pressão submetida, por propiciar uma menor flexibilidade (SMELT, 1998).

Já foi observado que pressões hidrostáticas em valores subletais induzem a expressão de uma enzima desaturase em leveduras. Essa enzima promove a dessaturação de lipídeos de membrana, ou seja, promovem um aumento no número de insaturações (FERNANDES et al., 2004), fazendo com que a membrana se torne mais fluida. Células com membrana mais fluida são mais barotolerantes (CASADEI et al., 2002). Não está claro como uma membrana mais fluida proporciona maior resistência a HHP. A pressão em que a transição de fase ocorre seria maior nas células com uma membrana mais fluida, mas não são conhecidas as circunstâncias. Se existirem danos à célula, isso é ligado à fase de transição. Os danos à membrana citoplasmática após a pressurização foram também repetidamente relatados, com a perda de respostas osmóticas (PAGÁN & MACKEY 2000; MANÑS & MACKEY 2004), absorção de corantes vitais (SHIGEHISA et al., 1991; BENITO et al., 1999; PAGÁN & MACKEY, 2000; MANÑS & MACKEY, 2004), perda do material intracelular, e formações dos brotos e de vesículas de origem lipídica (PERRIER-CORNET et al., 1999; RITZ et al., 2000; MANÑS & MACKEY, 2004).

A perda da função de algumas proteínas de membrana, incluindo a ATPasintase e bombas de efluxo de drogas, também foi descrita (SMELT et al., 1994; WOUTERS et al., 1998; MOLINA-HOPPNER et al., 2004). Um relacionamento direto entre a perda da integridade de membrana e perda da viabilidade foi encontrado para tratamento de pressão em células em crescimento exponencial (PAGÁN & MACKEY, 2000; MANÃS & MACKEY, 2004). Foi também demonstrado que membrana externa e citoplasmática é permeabilizada em alguma extensão (HAUBEN et al., 1996; PAGÁN & MACKEY, 2000; GANZLE & VOGEL, 2001; MANÃS & MACKEY, 2004) e que o tratamento de pressão em células na fase estacionária de *Escherichia coli* pode manter a membrana citoplasmática fisicamente intacta após a descompressão, mesmo dentro de células inoperantes (PAGÁN & MACKEY, 2000; MANÃS & MACKEY, 2004). Conseqüentemente, outras estruturas dentro da célula foram propostas também como alvos-chave potenciais para a inativação pela HHP. Alguns autores relataram similaridades entre a cinética celular de desnaturação e a inativação de proteínas pela HHP (SONOIKE et al., 1992). Mudanças conformacionais do núcleo, dos ribossomos e da proteína citoplasmática foram descritas (MACKEY et al., 1994; NIVEN et al., 1999; MANÃS & MACKEY, 2004), dados encontrados também em estudos com levedura (FERNANDES, et al., 2001). Niven et al. (1999) encontraram um relacionamento direto entre a perda da viabilidade em *E. coli* e ribossomos. Os autores concluíram que outros fatores, junto com a desestabilização inicial do ribossomo, esclarecem a morte da célula, sugerindo que a perda de ions essenciais como o magnésio através de uma membrana danificada, poderia ser o evento que provoca a desestabilização do ribossomo. Além disso, Perrier-Cornet et al. (1999) correlacionaram perdas de células viáveis de leveduras do gênero *Saccharomices* com a perda dos solutos internos causados pela permeabilização induzida durante o tratamento de HHP. Parece claro que algumas dessas lesões celulares, como a condensação do DNA e de proteína, não são necessariamente letais (MANÃS & MACKEY, 2004) e são reparáveis, desde que a célula mantenha uma membrana funcional e as circunstâncias ambientais sejam apropriadas. A inativação de HHP parece ser de natureza multifatorial. A membrana é o alvo chave, mas eventos adicionais, tais como a perda extensiva do soluto durante a pressurização, a coagulação da proteína, a inativação de enzimas chave e as mudanças conformacionais dos

ribossomos, junto com mecanismos danificados da recuperação, parecem também necessários para matar as bactérias (CHEFTEL, 1995).

3.1.3 HHP e os alimentos

Alimentos processados por alta pressão hidrostática são comercializados no Japão, incluindo preparados de frutas, bolinhos de arroz e lula crua (COELHO, 2002, CAMPOS, 2003) e há um grande interesse nesse processo também na Europa e Estados Unidos (COELHO, 2002). Recentemente, “guacamole” (pasta de abacate) foi lançada com êxito no mercado americano. Devido a polpas de frutas tropicais serem produtos com características de sabor e frescor bem peculiares e facilmente degradados quando submetidos a tratamentos térmicos convencionais; eles se tornam favorecidos e beneficiados pelo tratamento da alta pressão hidrostática, pois, como já mencionado, as características nutritivas e funcionais dos alimentos tratados com HHP são bem próximas às dos produtos *in natura* (CAMPOS, 2003).

As características da água congelada podem ser modificadas com a pressão hidrostática (KALICHEVSKY et al., 1995). Em temperatura ambiente, a água ainda permanece congelada a aproximadamente 1000 MPa, produzindo uma incomum forma de alta densidade de “warm ice”. Outro fenômeno da pressão hidrostática está relacionado ao congelamento da água: baixas pressões decrescem seu ponto de congelamento para no mínimo -22 °C a 207,5 MPa, o que permite uma interessante oportunidade para o armazenamento de comidas congeladas, pois impede a formação dos cristais de gelo, como ocorre com o método convencional de congelamento de alimentos (EARNSHAW, 1996). Pesquisas já têm demonstrado a boa intenção de compra dos consumidores por produtos submetidos à tecnologia da HHP (DELIZA et al., 2005).

Contudo, independente do método utilizado para conservar os alimentos, todos têm um objetivo comum: aumentar a vida de prateleira dos produtos. O efeito da alta pressão contra a diminuição da qualidade no pós-processamento de suco de frutas é um importante tema para estudo. A vida de prateleira de uma variedade de sucos de frutas pode ser estendida com o uso da HHP, quando comparados com sucos não

tratados. E ainda, ocasionando perdas mínimas na composição do produto fresco, sem alterar seu sabor original (DELIZA et al., 2005).

OBJETIVOS

1 OBJETIVO GERAL

Utilizar uma tecnologia alternativa de esterilização, a pressão hidrostática, para garantir a conservação de polpas de frutas tropicais, mais especificamente de mamão e manga, mantendo sua qualidade sensorial e nutricional originais, viabilizando o uso dessa tecnologia para as agroindústrias.

2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Determinar o valor mínimo de pressão capaz de promover a inativação de microrganismos contaminantes de polpa de mamão e manga;
- 2- Determinar o tempo mínimo de tratamento com a pressão selecionada capaz de manter os níveis de microrganismos na polpa de acordo com a legislação vigente;
- 3- Analisar o tempo de prateleira das polpas tratadas, armazenadas sob temperatura de 4 e 28 °C;
- 4- Avaliar a influência de diferentes temperaturas sobre as características da polpa de fruta submetida ao tratamento da pressão hidrostática;
- 5- Analisar o comportamento das características de equivalência substancial – conteúdo de vitaminas (ácido ascórbico e β -caroteno); açúcares, pH, acidez total titulável (expressa em mg de ácido cítrico) e sólidos solúveis (°BRIX) – em polpas de mamão e manga, ao longo do tempo de armazenamento sob diferentes condições de pressão e temperaturas; e
- 6- Enfatizar os benefícios dessa tecnologia para a saúde do consumidor, mediante a comprovação das mínimas alterações provocadas na polpa, comparando com a polpa *in natura*.

MATERIAL E MÉTODOS

1 Seleção dos frutos e extração da polpa.

As frutas, mamão (*Carica papaya L.* - mamão papaya) e manga (*Mangifera indica L.* - 'Tommy Atikins'), foram adquiridas no comércio local. No laboratório, juntamente com os materiais utilizados, como liquidificador, faca, colher, jarras e peneira, foram lavados e sanitizados com solução clorada (100 a 200 ppm) por 15 min. O corte e a retirada das sementes foram feitos manualmente com o auxílio de uma colher e uma faca, e a polpa foi triturada utilizando-se liquidificador elétrico, adicionando-se água filtrada até obter 10 °BRIX para o mamão e 11 °BRIX para manga. Figura apresenta um esquema de todos os procedimentos realizados com as frutas no laboratório.

2 Tratamento de pressão hidrostática.

Após a seleção do valor de tempo e de pressão, as amostras de polpas pressurizadas e também de polpas não tratadas; foram armazenadas em tubos *ependorf* nas temperaturas de 4 e 28 °C, para análises microbiológicas e de equivalência substancial semanais.

3 Análise microbiológica

Alíquotas das amostras submetidas ao tratamento descrito no item 2 e amostras controle (sem tratamento) foram retiradas e plaqueadas em placas de Petri em duplicata, contendo meio de cultura específico para o crescimento de cada microrganismo a ser analisado.

3.1 Bactérias totais e gram-negativas

O plaqueamento para as análises do desenvolvimento de bactérias foi feito pela técnica de *pour plate*, em que uma amostra de 100 µl é colocada no centro da placa de petri e o meio de cultura é despejado sobre a amostra. E em seguida, eles são homogeneizados, fazendo-se movimentos circulares em forma de oito (SILVA et al, 1997). As placas de petri foram incubadas a 35 °C por 2 dias e a 7 °C por 10 dias para posterior contagem do número de microrganismos mesófilos aeróbios (totais e gram-negativos) e psicotróficos, respectivamente. As placas apresentando 25 a 250 unidades formadoras de colônias (UFC) foram selecionadas e contadas, e o número de UFC/mL (unidades formadoras de colônias por mililitro) determinado considerando-se a média das duplicatas. Utilizou-se o meio de cultura Agar-padrão para análise de bactérias totais e o meio de cultura Mac Conkey para análise de indicação de microrganismos entéricos.

3.2 Bolores e leveduras

O plaqueamento para as análises do desenvolvimento de bolores e leveduras foi feito pela técnica de *spread plate*. Foram colocados 100 µl de amostra em placas de petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) acidificado (pH 3,5) com ácido tartárico a 10% (BDA - meio seletivo para bolores e leveduras) e incubadas em estufa a 28 °C por 05 dias (SILVA et al, 1997). Após esse período, foi feita a contagem das placas que apresentavam de 25 a 250 UFC, e o número de UFC/mL foi determinado considerando-se a média das duplicatas.

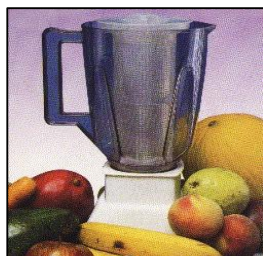


Frutas Tropicais



Processamento da Fruta:

- Lavagem
- Desinfecção
- Retirada da Polpa



Processamento da Polpa



Análises de Qualidade



Estocagem:

Temperatura = 4 °C e 28 °C

Tempo = 28 dias



Figura 1 - Esquema dos procedimentos realizados com as frutas desde sua aquisição e processamento até as análises microbiológicas e de equivalência substancial.

4 Análises de equivalência substancial

As análises foram realizadas em três repetições ao longo do tempo, usando como controle polpas (de mamão e manga) não tratadas. As análises foram repetidas semanalmente para ambas as polpas, armazenadas sob as temperaturas de 4 e 28 °C, escolhidas com base na temperatura de armazenamento de produtos alimentícios refrigerados (1 a 10 °C), e na temperatura ambiente para analisar o comportamento das características da polpa sem a refrigeração.

4.1 Sólidos solúveis totais.

O conteúdo de sólidos solúveis totais da polpa do mamão e da manga foi medido utilizando-se o refratômetro portátil com variação em grau Brix (°B) de 0 - 32 °B, apresentando temperatura calibrada em 20 °C. Uma gota da polpa foi colocada sobre o prisma do refratômetro direcionado para uma fonte de luz para leitura da porcentagem de sólidos solúveis totais (DADZIE e ORCHARD, 1997).

4.2 Dosagem de açúcares totais

Para a dosagem de açúcares totais foi utilizado o método titulométrico (método de Felhing - adaptado: Instituto Adolfo Lutz, 2005). Ao reagir com os ions cúpricos, os açúcares sofrem oxidação, enquanto o Cu (II) é reduzido a Cu (I), formando um precipitado vermelho de óxido cuproso. A reação de oxidação dos açúcares com o cobre pode ser visualizada na Figura 3. Os açúcares não redutores sofrem hidrólise prévia em meio ácido, dissociando os dissacarídeos em seus monossacarídeos os quais reagem com ions cúpricos da solução de Felhing, reduzindo-os a ions cuprosos, sob ação de calor e em meio alcalino.

4.2.1 Glicídios redutores em glicose

Num balão de 50 mL, foi depositado 1mL de amostra e completado o volume com água destilada (solução 1). A solução foi transferida para uma bureta e titulada sobre um béquer contendo 2 mL de solução de Felhing A (34,639g de sulfato de cobre completando o volume em 500 mL de água destilada); 2 mL de solução de Felhing B (173 g de tartarato de sódio e potássio tetrahidratado, 50 g de hidróxido de sódio completando o volume em 500 mL de água destilada); e 8 mL de água destilada. O conteúdo do béquer estava em ebulição, e a titulação continuou até o aparecimento de um precipitado marrom-avermelhado no fundo e até a coloração da solução sobrenadante apresentar-se transparente.

4.2.2 Glicídios não-redutores em sacarose

Foram transferidos 20 mL da solução 1 para um balão de 100 mL, acrescentando 1 mL de ácido clorídrico. O balão permaneceu em banho-maria a 80 °C por 15 minutos, para a hidrólise dos açúcares. A solução foi esfriada em água corrente e neutralizada com carbonato de sódio até pH 7. O pH foi verificado com fita de pH e acrescentado o volume com água destilada (solução 2). Essa solução foi transferida para a bureta e a titulação foi realizada como em 4.2.1.

4.2.3 Padrão

Foi feito um padrão com solução de glicose 0,5% e os cálculos de açúcares redutores e não redutores realizados por diferença na concentração demonstrada na titulação.

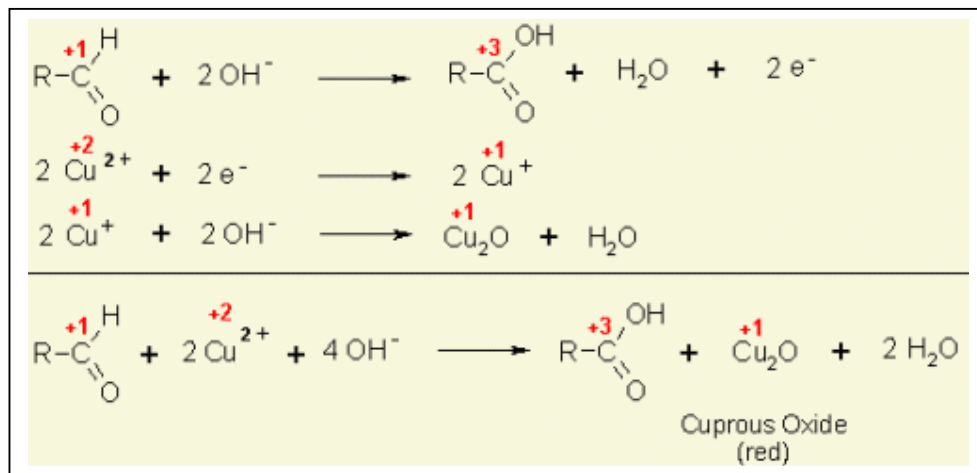


Figura 3 - Reação de Felhing

Fonte: Keusch, Peter, 2003.

4.3 Conteúdo de vitamina C

Foi feita uma titulação pelo método de Tillmans (adaptado Instituto Adolfo Lutz, 2005), o qual se baseia na redução do corante *2,6 diclorofenol indofenol*, por uma solução ácida de vitamina C (ácido ascórbico). Um grama de polpa foi acrescido de 25 mL de água destilada e 3 mL de solução ácida (15 g de *ácido metafosfórico*, 40 mL de *ácido acético*, 200 mL de água destilada), e a titulação feita com uma solução de Tillmans (42 g de *carbonato de sódio*, 50 mL de água, 50 g de *2,6 diclorofenol indofenol*), até a viragem da solução de vitamina C. O ponto de viragem se dá quando a solução atinge uma coloração rósea fixa por 15 segundos. Os cálculos foram feitos com base na fórmula:

$$V \times F \times 100 / A$$

Em que: V= Volume da solução de Tillmans gastos na titulação; F= fator da solução de Tillmans (titulação procedida com uma solução de ácido ascórbico, preparada com 100 µg de ácido ascórbico, 100 mL de solução ácida), e A= mL da amostra utilizados.

A reação química ocorrida na titulação pode ser visualizada na Figura 4.

4.4 Conteúdo de β-Caroteno

As análises do conteúdo de β-caroteno foram realizadas adaptando-se a metodologia de extração descrita nas normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz, 2005, que se baseiam em análise colorimétrica do pigmento em espectrofotômetro.

A extração do β-caroteno foi feita por éter de petróleo, em que 1 mL da polpa foi misturado a 30 mL de éter de petróleo e mantido sob agitação durante 90 minutos em shaker a 160 rpm. O sobrenadante foi filtrado em papel filtro e reservado em balão volumétrico de 50 mL. O resíduo foi novamente submetido a agitação por 60 minutos com mais 20 mL de éter. A parte aquosa foi novamente filtrada, completou-se o volume do balão com éter de petróleo e a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 450 nm, usando-se éter de petróleo como branco. A quantidade de β-caroteno foi calculada de acordo com a fórmula: Absorbância / 24,4 x g da amostra em 100 mL. Os resultados foram expressos em µg de β-caroteno / 100 mL.

4.5 Acidez total titulável (ATT)

Para acidez titulável foi utilizada a metodologia adaptada, descrita nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005). Para essa análise foi utilizada uma amostra de 1g de polpa (tratada com a pressão e controle) diluída em 25 mL de água, acrescida de 3 gotas de fenolftaleína 1% (solução indicadora). Com uma bureta contendo uma solução de hidróxido de sódio 0,01N (NaOH 0,01N), procedeu-se a titulação até o ponto de viragem da fenolftaleína, que ocorre quando a solução contendo a amostra atinge uma coloração rosa claro (pH = 8,2). O ponto de viragem de indicação da fenolftaleína foi verificado com pHmetro digital. Os resultados foram expressos em mg de ácido cítrico/ 100.

4.6 Potencial hidrogeniônico (pH)

O valor do pH foi verificado em pHmetro digital (Schott, Alemanha), em que 1g da amostra foi diluída em 25 mL de água destilada e a leitura feita inserindo o pHmetro na amostra, até a estabilização do valor de pH, em temperatura ambiente.

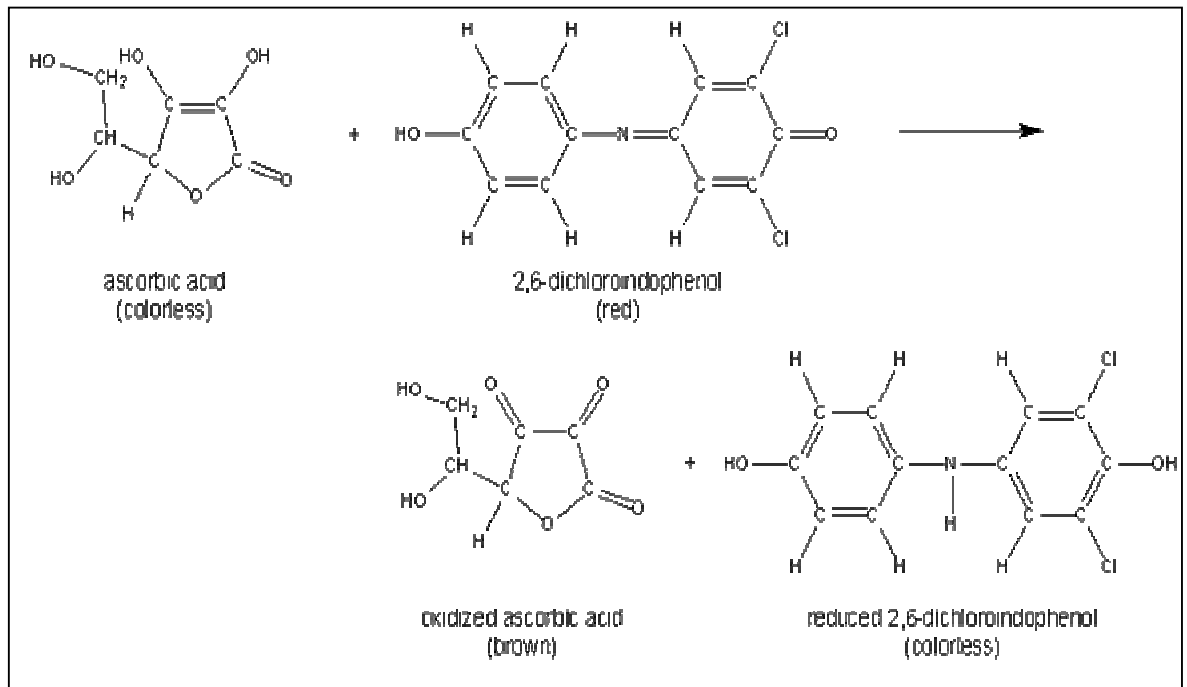


Figura 4 - Reação de Tillmans

Fonte: B. K. Kramer, V. M. Pultz and J. M. McCormick, 2006

5 Análise estatística

O experimento foi conduzido seguindo um delineamento em blocos ao acaso (DBC), com 3 repetições, num esquema fatorial 2 x 2 x 5, em que os tratamentos foram formados pela combinação dos fatores pressão (0,1 e MPa), temperatura (4 e 28 °C) e tempo de armazenamento (0, 7, 14, 21 e 28 dias). Para todas as características avaliadas, foi realizada a análise de variância de acordo com o modelo estatístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + B_l + P_i + Tr_j + T_k + PT_{ij} + PT_{ik} + TrT_{jk} + PTrT_{ijk} + e_{ijkl}$$

em que:

Y_{ijkl} = valor observado na polpa armazenada na i-ésima pressão, j-ésima temperatura no k-ésimo tempo dentro do bloco l;

μ = média geral;

B_l = efeito do bloco l (l = 1, 2, 3);

P_i = efeito da i-ésima pressão (i = 1, 2);

Tr_j = efeito da j-ésima temperatura (j = 1,2);

T_k = efeito do k-ésimo tempo (k = 1,2,...,5);

PT_{ij} = efeito da interação entre pressão e temperatura;

PT_{ik} = efeito da interação entre pressão e tempo;

TrT_{jk} = efeito da interação entre temperatura e tempo;

$PTrT_{ijk}$ = efeito da interação entre pressão, temperatura e tempo; e

e_{ijkl} = erro experimental, onde $e_{ijkl} \sim NID(0, \sigma^2)$

Para as características cujas análises de variância identificaram interações significativas entre dois ou mais fatores, pelo teste F ($P < 0,05$), foram realizados os devidos desdobramentos de um fator dentro do(s) outro(s). Ainda, no caso de ocorrência de diferenças significativas entre médias de tratamentos, foram realizados testes de comparação de médias de Tukey ($P < 0,05$) dentro de cada tempo e/ou análise de regressão para a variação observada nas características ao longo do tempo. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se recursos computacionais do programa SAEG 9.0 (EUCLYDES, 2004), e os gráficos do comportamento da equivalência substancial e microbiológicas foram plotados por meio do programa Prism® (Graphpad Software, Ine, San Diego, EUA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a aquisição das frutas no comércio local, foi feita a sanitização e extração das polpas no laboratório. As polpas foram submetidas ao tratamento de pressão, e seguiram-se as análises microbiológicas e de equivalência substancial.

1 Análise microbiológica

As polpas de mamão e manga foram submetidas a diferentes valores de pressão (a MPa) por min, como descrito no item 2 (material e métodos). Amostras de polpa (submetidas a pressão e sem tratamento) foram plaqueadas imediatamente. Analisando-se a Figura 5, podemos confirmar que a pressão hidrostática possui um efeito deletério aos microrganismos. Na polpa de mamão esse efeito é mais acentuado para os bolores e leveduras do que para as bactérias. É notável, também, que o crescimento dos microrganismos é inversamente proporcional aos valores de pressão aplicados, ou seja, à medida que o valor de pressão aumenta, o número de microrganismo na polpa decresce. Para o tratamento com o valor de pressão de MPa não foi observado o crescimento de microrganismo (Figura 5). Estudos com carne de lombo de porco demonstraram ser possível a eliminação de *Salmonella* com um valor de pressão 414 MPa por 2 min (ANANTH et al., 1998). Nesse estudo nas análises do crescimento de bactérias mesófilas aeróbias totais e gram-negativas não foi observado o crescimento de colônias na polpa tratada (em nenhum valor de pressão) e nem na polpa controle. Disso, podemos excluir a possibilidade de presença de bactérias como *salmonela* e coliformes fecais. Esse resultado já era de certa forma esperado, uma vez que foram tomados todos os cuidados na manipulação e sanitização das frutas e, em se tratando de bactérias entéricas, essas só estariam presentes por alguma contaminação cruzada. Microrganismos patogênicos como *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella* e outros também podem ser inativados pela HHP (tipicamente 5-15 minutos a 400 MPa) sem alterações nas qualidades de “fresco” dos produtos alimentares (TORRES et al., 2005). Em estudos anteriores, também não foram

observadas células viáveis de *E. coli* durante a estocagem de suco de maçã inoculado com um coquetel desse microrganismo, o qual havia sido submetido ao tratamento de 545 MPa por 1 min; o suco manteve-se estável (sem crescimento de células) por um mês a temperatura ambiente e por 2 meses sob refrigeração (www.fresherununderpressure.com). Também não foi observado o crescimento de bactérias psicrotróficas em nenhum dos valores de pressão analisados.

Portanto, o valor de MPa foi suficiente para inativar os microrganismos presentes nas polpas das frutas tropicais estudadas. Dessa forma, após a análise dos resultados, foi selecionado o valor de pressão de MPa para a repetição dos testes microbiológicos, porém, nessa etapa, o tratamento de pressão foi aplicado por 5 minutos. A análise microbiológica foi realizada imediatamente após o tratamento, e amostras de polpas (mamão e manga) foram armazenadas a 4 e 28 °C para o procedimento de análises microbiológicas semanais. O tratamento com pressão de MPa por min resultou em uma polpa estéril por até 28 dias, em ambas as temperaturas de armazenamento.

A morte celular provocada por tratamento de pressão hidrostática tem sido associada a um dano estrutural ou disfunção fisiológica. Dentre os danos estruturais, a interrupção de envelopes, as mudanças conformacionais de DNA, as alterações de ribossomos ou a agregação de proteínas são as mais frequentemente descritas. Em geral, esporos de bactérias são os mais resistentes dos microrganismos a estresses fisiológicos. Bactérias gram-positivas são mais resistentes que as gram-negativas, e isso tem sido atribuído a maior rigidez de seus envelopes (MANÃS & MACKEY, 2004). Estudos indicam que suco de laranja microbiologicamente estável pode ser obtido após o tratamento de 400 MPa (OGAWA et al., 1987; DONSI et al., 1997). Pressões acima de 500 MPa por 2 minutos podem reduzir a microbiota nativa em suco de laranja (PARISH & OLSON, 1994). Também Parish et al. (1998) não observaram crescimento de microrganismo em suco de laranja tratado com HHP (500-700 MPa por 60-90 segundos). Portanto, podemos assumir que MPa por min é capaz de promover, nas células dos microrganismos alterações suficientes para causar sua inviabilidade.

No entanto, a legislação vigente para polpa de frutas permite uma quantidade padronizada de microrganismos, que não causariam patologias após o consumo. Verificando a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - número 12, de 2 de janeiro de 2001 (Tabela 1) constatamos que nossas amostras encontraram-se dentro da legislação vigente.

Tabela 1 - Determinação de valores de microrganismos segundo a RDC janeiro/2001

Grupo de Alimentos	Microrganismo	Tolerância para Amostra INDICATIVA	Tolerância para Amostra Representativa			
			n	c	m	M
polpa de frutas concentradas ou não, com ou sem tratamento térmico, refrigeradas ou congeladas	Coliformes a 45 °C/g	10 ²	5	2	10	10 ²

Fonte (adaptada): Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001

m: é o limite que, em um plano de três classes, separa o lote aceitável do produto ou lote com qualidade intermediária aceitável.

M: é o limite que, em plano de duas classes, separa o produto aceitável do inaceitável. Em um plano de três classes, M separa o lote com qualidade intermediária aceitável do lote inaceitável. Valores acima de M são inaceitáveis

n: é o número de unidades a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente. Nos casos nos quais o padrão estabelecido é ausência em 25g, como para Salmonella sp e Listeria monocytogenes e outros patógenos, é possível a mistura das alíquotas retiradas de cada unidade amostral, respeitando-se a proporção p/v (uma parte em peso da amostra, para 10 partes em volume do meio de cultura em caldo).

c: é o número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites de m e M (plano de três classes). Nos casos em que o padrão microbiológico seja expresso por "ausência", c é igual a zero, aplica-se o plano de duas classes.

Analisando a legislação vigente e os resultados obtidos neste estudo, observamos que, para as polpas das frutas tropicais (mamão e manga) tratadas com pressão de MPa por min, é possível a obtenção de produtos microbiologicamente seguros.

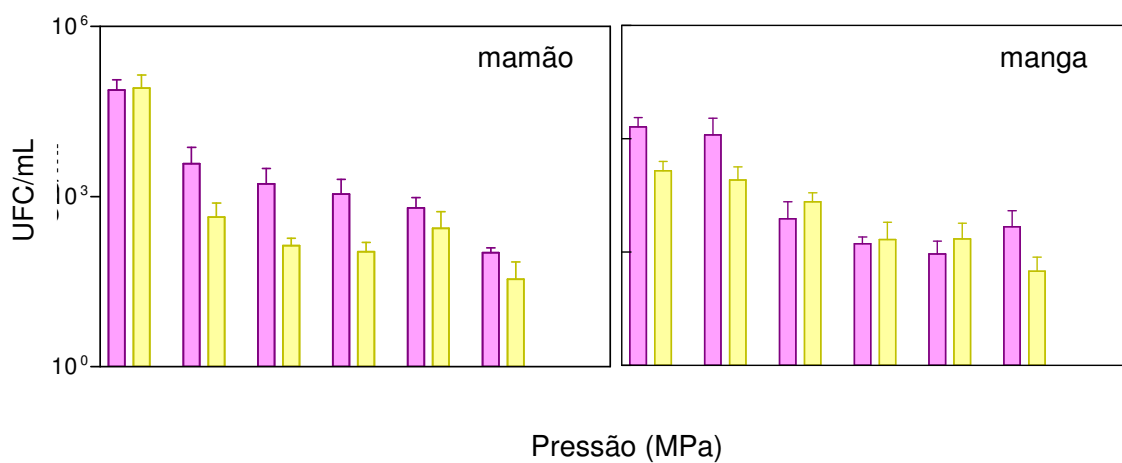


Figura 5 - Análise da sobrevivência de microrganismos (■ bactérias aeróbias gram-negativas, ■ bolores e leveduras) em polpas de mamão e manga submetidas a diferentes valores de pressão a temperatura ambiente por 10 min.

1 Equivalência substancial

O conceito de equivalência substancial surgiu e tem sido primordialmente discutido pela comunidade internacional dentro do contexto da avaliação de segurança de novos alimentos. Tal doutrina também é utilizada para a questão da rotulagem de alimentos, na medida em que avalia a extensão da alteração na composição, valor nutricional e uso desejado de alimentos. Neste trabalho, procuramos dar ênfase às alterações ocorridas na polpa submetida ao tratamento da HHP ao longo do tempo e da temperatura de armazenamento.

Após seleção do valor de pressão de MPa por min, as polpas foram armazenadas a 4 e 28 °C e submetidas as análises microbiológicas e de equivalência substancial semanais. A partir deste ponto, nas análises estatísticas, quando mencionarmos “pressão”, estaremos relatando: tratamento (MPa) e controle (Pressão ambiente = 0,1 MPa); ao falarmos de “temperatura” de armazenamento, estaremos nos referindo a 4 e 28 °C; e “tempo”, ao período de 0 a 28 dias de armazenamento.

2.1 Sólidos solúveis totais

Os sólidos solúveis são compostos que se misturam ou se dissolvem em meio aquoso, formados principalmente por açúcares, que dão o sabor doce e ácido, resultando no gosto azedo. Alguns outros compostos também participam dos Sólidos Solúveis Totais (SST), mas em quantidade quase insignificante (PERES. Acesso em: 17.out.2006).

O conteúdo de sólidos solúveis totais, expressos em °BRIX, foi analisado em ambas as polpas (mamão e manga), antes e logo após o tratamento de pressão hidrostática, para todos os valores e tempos testados. Para essa característica não houve variação entre a polpa tratada e a não-tratada, assim como não alterou nas diferentes temperaturas de armazenamento ao longo do período de estocagem de

28 dias. Resultados semelhantes foram encontrados em isotônico de maracujá pasteurizado armazenado por 141 dias em temperatura ambiente e de geladeira (MARCH et al., 2003); e em suco de laranja submetido a HHP (700 MPa/60 s; 500 MPa / 90 s; 500 MPa / 50 °C; 500 MPa / 60 °C) armazenados a 4 e 8 °C por 16 semanas (PARISH, 1998). Portanto, podemos concluir que a pressão hidrostática não afeta a quantidade de sólidos solúveis e que o tempo e a temperatura também não influenciarão nessa característica nas polpas de frutas estudadas.

2.2 Açúcares totais

2.2.1 Glicídios redutores em glicose

Açúcares redutores são carboidratos doadores de elétrons por possuírem grupos aldeídos ou cetônicos livres ou potencialmente livres, capazes de reduzir os agentes oxidantes e se oxidarem em meio alcalino.

Analisando a Figura 6, podemos perceber que o conteúdo de açúcares redutores na polpa de mamão, tratada e não tratada, apresenta alterações mínimas quando armazenadas a 4 °C. Já na polpa armazenada a 28 °C, as alterações são de decréscimo apenas na polpa controle. Esses dados podem ser mais bem discutidos através das análises estatísticas demonstradas na Tabela 2, em que confirmamos que a temperatura e o tempo provocaram alterações significativas em nível de 1% de probabilidade. A pressão analisada isoladamente e a interação entre o tempo e temperatura causaram alterações significativas em nível de 5% de probabilidade no conteúdo de açúcares redutores, em que a média do valor do conteúdo de açúcares redutores nas polpas armazenadas a 28 °C foi de 6,4 g/100 mL enquanto sob a temperatura de 4 °C a média foi de 7,70 g/100 mL. Pelo teste de Tukey (5% de probabilidade), esse dado não é significante. Podemos concluir, em fatores isolados, que, em temperatura de geladeira, a característica do conteúdo de açúcares redutores mais bem conservada.

A pressão, pelo teste de Tukey, provocou alterações significativas, em nível de 5% de probabilidade, no conteúdo de açúcares redutores na polpa de mamão durante o tempo de armazenamento (Tabela 6), sendo que a média foi de 7,35 g% de glicose na polpa tratada (MPa) e de 6,75 g% de glicose na polpa não tratada (0,1 MPa) havendo, portanto, uma melhor retenção desse nutriente na polpa submetida ao tratamento de HHP.

Tabela 2 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores do conteúdo açúcares redutores (g/100 mL) em polpa de mamão submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrado	F	Significância
Tempo	4	15.47401	4.48*	0.0046
Temperatura	1	25.64988	29.70*	0.0000
Pressão	1	5.526735	6.40**	0.0157
Tempo x Temperatura	4	9.100677	2.63**	0.0490
Tempo x Pressão	4	4.450490	1.29 ^{NS}	0.2917
Temperatura x Pressão	1	13.39537	15.51*	0.0003
Tempo x Temp x Pressão	4	3.748250	1.09 ^{NS}	0.3776
Resíduo	38	32.81304		

Número de Dados = 60

Média Geral = 7.0538

Coefficiente de Variação = 13.174

GL = grau de liberdade

NS = Não significativo

*significância a 1% de probabilidade

**significância a 5% de probabilidade

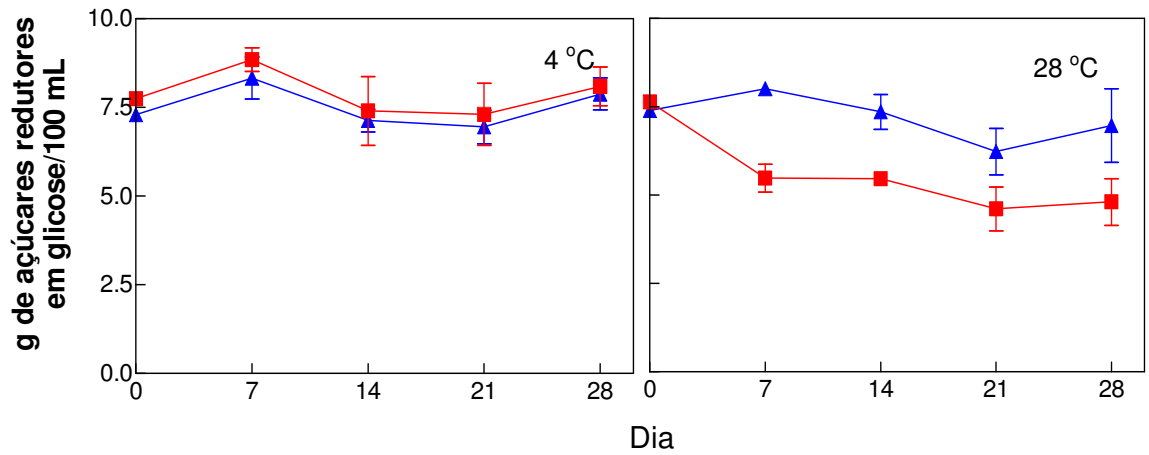


Figura 6 - Variação do conteúdo de açúcares redutores (■ Controle ▲ Pressão MPa) da polpa de mamão ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.

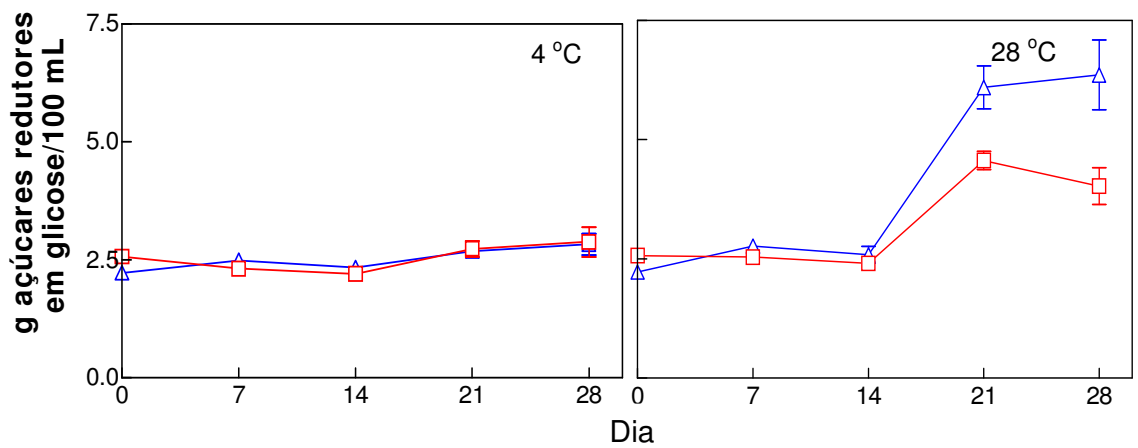


Figura 7 - Variação do conteúdo de açúcares redutores (□ Controle △ Pressão MPa) da polpa de manga ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.

Na polpa de manga, podemos observar (Figura 7) que houve um aumento no conteúdo de açúcares redutores sob a temperatura de 28 °C de armazenamento para ambas as polpas (tratada e não tratada). Sob a temperatura de 4 °C, as variações no conteúdo de açúcares redutores foi semelhante em ambas as polpas (tratada e controle). Analisando-se estatisticamente todos os fatores, isolados e em associação, observamos alterações significantes em nível de 1% de probabilidade (Tabela 3). Porém, pelo teste de Tukey, não houve significância para o fator pressão analisado isoladamente e nem para as interações entre tempo, temperatura e pressão. Disso podemos concluir que a pressão não foi a causa para as alterações, ou seja, as modificações ocorreram devido ao tempo e/ou a temperatura de armazenamento.

Tabela 3 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores do conteúdo açúcares redutores (g/100 mL) em polpa de manga submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrado	F	Significância
Tempo	4	36.35083	70.94*	0.0000
Temperatura	1	17.76704	138.70*	0.0000
Pressão	1	2.177415	17.00*	0.0002
Tempo x Temperatura	4	19.55997	38.17*	0.0000
Tempo x Pressão	4	3.946360	7.70*	0.0001
Temperatura x Pressão	1	2.460375	19.21*	0.0001
Tempo x Temp x Pressão	4	3.663300	7.15*	0.0002
Resíduo	38	4.867640		

Número de Dados = 60

Média Geral = 3.0728

Coefficiente de Variação = 11.647

GL = grau de liberdade

*significância a 1% de probabilidade

Temp = temperatura

Analisando o fator tempo em isolado (Tabela 4), podemos perceber que os valores mantiveram-se semelhantes do primeiro dia de análise ao 14^o dia de armazenamento, e as alterações que ocorreram após o 21^o dia se mantiveram até o 28^o dia.

Tabela 4 - Análise de média e variância do conteúdo de g% glicose em relação ao tempo (dias) de armazenamento em polpa de manga pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Tempo (dias)	Médias (Comparações 5%)
0	2.4017 ^b
7	2.5292 ^b
14	2.3850 ^b
21	4.0217 ^a
28	4.0267 ^a

Q(.050, 38)= 4.049 Dms = 0.4184

Contrastando tempo e temperatura (Tabela 5), percebemos que nas polpas armazenadas a 4 °C as modificações ocorridas no conteúdo de açúcares redutores foram semelhantes, porém a 28 °C ocorreu um aumento desse nutriente após o 21º dia de armazenamento, mostrando ser estatisticamente diferente dos valores nos dias precedentes.

Tabela 5 - Análise de média e variância do conteúdo g de açúcares redutores em relação ao tempo e temperatura de armazenamento em polpa de manga pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Temperatura / Tempo (dias)	0	7	14	21	28
4 °C	2.40 ^a	2.40 ^a	2.27 ^a	2.71 ^a	2.86 ^a
28 °C	2.40 ^b	2.66 ^b	2.50 ^b	5.33 ^a	5.20 ^a

A partir da Tabela 5, podemos concluir que a polpa armazenada a 4 °C mantém melhor sua característica original quanto ao conteúdo de açúcares redutores. Relacionando o tempo (Tabela 6), podemos perceber alterações na polpa-controlada, porém a polpa pressurizada manteve valores de açúcares redutores semelhantes durante todo o período de armazenamento.

Tabela 6 - Análise de média e variância do conteúdo g/100 mL em relação ao tempo de armazenamento e tratamento (pressão) em polpa de mamão, pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Pressão (MPa) / Tempo (dias)	0	7	14	21	28
0,1	2.88 ^b	2.43 ^a	2.31 ^a	3.65 ^b	3.46 ^b
	3.26 ^a	2.63 ^a	2.46 ^a	4.39 ^a	4.60 ^a

Analisando o comportamento das polpas (controle 0,1 MPa) e pressurizada (400 MPa) em relação à temperatura de armazenamento (4 e 28 °C) (Tabela 7), a polpa tratada manteve as características originais em ambas as temperaturas.

Tabela 7 - Análise de média e variância do conteúdo g% de glicose em relação a temperatura de armazenamento e tratamento (pressão) em polpa de manga, pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Temperatura	Pressão (MPa)	
	0,1	
4 °C	2.54 ^a	2.52 ^a
28 °C	3.22 ^b	4.01 ^a

Butz et al. (2002) relatam que a glicose é uma molécula polar assim como a água e, portanto, efeitos similares de retenção ocasionados pela alta pressão podem ser esperados. Podemos concluir que a pressão foi eficiente para preservar o conteúdo de açúcares redutores, sendo que a manutenção dessa característica é mais eficiente se a polpa for mantida sob a temperatura de 4 °C.

2.2.2 Glicídios não-redutores em sacarose

Os glicídios não-redutores são açúcares que não reagem com estruturas químicas por não apresentarem grupos aldeídos ou cetônicos livres. Nas frutas são representados pela sacarose. Observando a Figura 8, podemos notar a semelhança na variação do conteúdo de açúcares não-redutores na polpa de mamão entre os diferentes tratamentos e temperatura de armazenamento, ocorrendo uma diminuição no conteúdo de sacarose ao longo do período de armazenamento. Apenas o fator tempo, em isolado, demonstrou mudanças significativas em nível de 1% de probabilidade (Tabela 8). Porém, analisando pelo método de Tukey, observa-se que não houve diferenças significativas.

Tabela 8 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores do conteúdo açúcares não redutores (g/100 mL) em polpa de mamão submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por ⁵ minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrado	F	Significância
Tempo	4	400.6301	9.92*	0.0000
Temperatura	1	0.7632667e-01	0.01 ^{NS}	*****
Pressão	1	1.429127	0.14 ^{NS}	*****
Tempo x Temperatura	4	0.6767900	0.02 ^{NS}	*****
Tempo x Pressão	4	17.11786	0.42 ^{NS}	*****
Temperatura x Pressão	1	0.4816667e-01	0.00 ^{NS}	*****
Tempo x Temp x Pressão	4	0.2876167	0.01 ^{NS}	*****
Resíduo	38	383.6700		

Número de Dados = 60

Média Geral = 2.0983

Coef. de Variação = 151.43

GL = grau de liberdade

*significância a 1% de probabilidade

NS = Não significativo

Temp = temperatura

Também Butz, et al. (2003) confirmaram que apenas após um tratamento de 800 MPa ocorreu um considerável resíduo de sacarose depois de 2 a 4 semanas de estocagem a 4 °C em purê de framboesa, comparando com um dramático decréscimo de sacarose em amostras submetidas a 4 min de calor. Em produtos convencionais, a degradação pode ser atribuída à influência dos ácidos das frutas. Em produtos pressurizados, o nível da sacarose decresceu mais rapidamente do que em produtos convencionais tratados com calor (ex.: geléias). Isso provavelmente ocorre devido à ação enzimática (ex.: invertase), mostrando que essas enzimas são extremamente estáveis a pressões de 600 MPa. Invertases são as enzimas que convertem a sacarose em glicose e frutose. Conclui-se que o mecanismo de início dessas reações de modificações nos níveis de açúcares não é consequência da pressão e sim de um mecanismo enzimático (BUTZ et al., 2003).

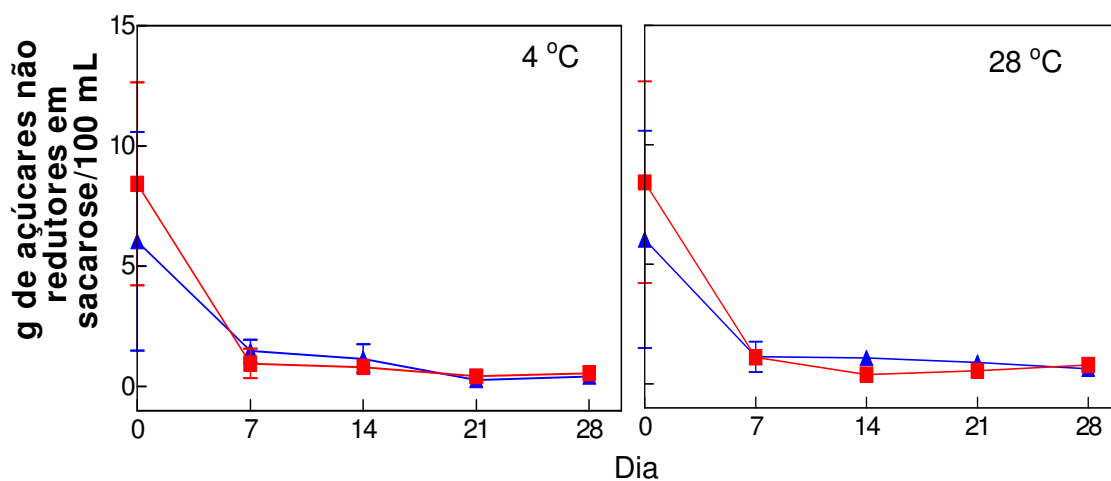


Figura 8 - Variação do conteúdo de açúcares não redutores (■ Controle ▲ Pressão MPa) da polpa de mamão ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.

No entanto, na polpa de manga percebemos que a diminuição no conteúdo de sacarose é maior na polpa armazenada a 28 °C (Figura 9), com um decréscimo maior para a polpa não tratada. Analisando esses dados estatisticamente, só não houve alteração significativa para a interação entre os três fatores analisados (tempo, pressão e temperatura) (Tabela 9).

Tabela 9 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores do conteúdo açúcares não redutores (g/100 mL) em polpa de manga submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrado	F	Significância
Tempo	4	31.80901	14.95*	0.0000
Temperatura	1	72.68803	136.68*	0.0000
Pressão	1	2.662827	5.01**	0.0312
Tempo x Temperatura	4	32.47822	15.27**	0.0000
Tempo x Pressão	4	5.664457	2.66**	0.0472
Temperatura x Pressão	1	2.948167	5.54**	0.0238
Tempo x Temp x Pressão	4	1.458950	0.69 ^{NS}	*****
Resíduo	38	20.20891		

Número de Dados = 60

Média Geral = 4.1903

Coefficiente de Variação = 17.403

GL = grau de liberdade

**significância a 5% de probabilidade

NS = Não significativo

Temp = temperatura

Analisando a variável tempo isoladamente (Tabela 10) pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade, podemos perceber que a quantidade de açúcares não redutores permanece semelhante entre o 7º e o 21º dia de armazenamento, mantendo-se sem diferenças do 14º ao 28º dia de estocagem.

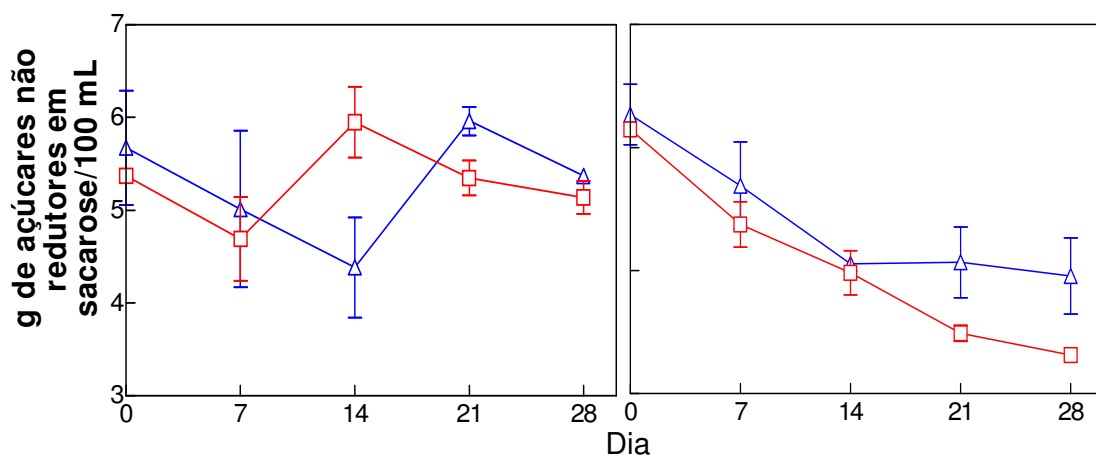


Figura 9 - Variação do conteúdo de açúcares não redutores (□ controle △ Pressão MPa) da polpa de manga ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.

Tabela 10 - Análise de média e variância do conteúdo açúcares não redutores em relação ao tempo de armazenamento em polpa de manga, pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Tempo (dias)	Médias
0	5.5233 ^a
7	4.3442 ^b
14	3.8583 ^{bc}
21	3.8042 ^{bc}
28	3.4217 ^c

Q(.050, 38)= 4.049 Dms = 0.8525

Assim como vimos nos valores de açúcares redutores, a temperatura de armazenamento de 4 °C foi mais eficiente na manutenção dos teores de açúcares não redutores, sem diferenças ao longo do tempo de armazenamento, fato confirmado através de análises pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 11). Por outro lado, a polpa armazenada a 28 °C apresentou alteração no conteúdo de açúcares não redutores na primeira semana de armazenamento, mantendo-se semelhante a partir do 14 ° dia de armazenamento.

Tabela 11 - Análise de média e variância do conteúdo de açúcares não redutores em relação à temperatura e tempo de armazenamento em polpa de manga, pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Temperatura / Tempo (dias)	0	7	14	21	28
4 °C	5.52 ^a	4.85 ^a	5.17 ^a	5.66 ^a	5.26 ^a
28 °C	5.52 ^a	3.83 ^b	2.55 ^c	1.95 ^c	1.59 ^c

Também, como visto nas análises nos valores de açúcares redutores, a polpa submetida ao tratamento de pressão de MPa por min manteve semelhante o conteúdo de açúcares não redutores ao longo do período de armazenamento em relação a polpa sem tratamento (Tabela 12), que apresentou um decréscimo na quantidade de sacarose (açúcar não redutor). Analisando a Tabela 13, concluímos que o tratamento de pressão e a temperatura de 4 °C foi eficaz para garantir a manutenção das características semelhantes às da polpa original.

Tabela 12 - Análise de média e variância do conteúdo de açúcares não redutores em relação ao tempo de armazenamento e tratamento (pressão) em polpa de manga, pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Pressão (MPa) / Tempo (dias)	0	7	14	21	28
0,1	3.98 ^b	4.07 ^a	4.20 ^a	3.29 ^b	2.96 ^b
	4.40 ^a	4.62 ^a	3.51 ^a	4.32 ^a	3.88 ^a

Tabela 13 - Análise de média e variância do conteúdo de açúcares não redutores em relação a temperatura de armazenamento e tratamento (pressão) em polpa de manga, pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Temperatura	Pressão (MPa)	
	0,1	
4 °C	5.30 ^a	5.28 ^a
28 °C	2.66 ^b	3.52 ^a

Produtos vegetais e frutas submetidos a pressão hidrostática não apresentaram alteração significativa no conteúdo de açúcares (BUTZ et al., 2003). Os resultados demonstram mais uma vez que esse tratamento não induz à redução ou a perdas em fatores benéficos de frutas. Porém, os mesmos autores levantam a possibilidade de mudanças sob diferentes condições de armazenamento. Kimura et al. (1994) analisando o conteúdo de sacarose em geléia de morango pressurizada (400-500 MPa por 10-30 min) e armazenadas a 4 °C, observaram uma redução de 10% comparada a geléia tratada com o método convencional (coocionamento a 70 °C) em que as perdas foram de 80% para as amostras armazenadas a 5 °C de 70% quando armazenadas a 25 °C após 3 meses.

2.3 Análise do conteúdo de Vitamina C

As polpas de mamão e manga foram analisadas semanalmente quanto ao conteúdo de vitamina C por um período de 28 dias, estando as amostras armazenadas a 4 e 28 °C. O conteúdo de vitamina C decresceu durante o período de estocagem;

entretanto, as perdas foram similares entre o controle e a polpa pressurizada, conforme podemos observar nas Figuras 10 e 11.

Analisando-se estatisticamente as alterações da vitamina C na polpa de mamão, podemos verificar que as perdas foram estatisticamente significativas a nível de 1% de probabilidade, para as variáveis isoladas de tempo, pressão e temperatura (Tabela 14). A polpa de mamão armazenada a 4 °C apresentou uma melhor retenção do conteúdo total dessa vitamina. Nessa temperatura, as perdas na polpa-controle foram de 20,42%; na pressurizada elas foram de 38,81%, sob a temperatura de 28 °C. Tais perdas foram muito maiores: 38,14 e 71, 7% respectivamente. Em suco de frutas cítricas, o conteúdo de ácido ascórbico decresce com o aumento da temperatura de armazenamento (BURDURLU et al., 2006), semelhante ao observado neste estudo.

Tabela 14 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores do conteúdo de ácido ascórbico/100 mL em polpa de mamão submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrado	F	Significância
Tempo	4	18017.32	9.40*	0.0000
Temperatura	1	15196.92	7.93*	0.0077
Pressão	1	17097.08	8.92*	0.0049
Tempo x Temperatura	4	2185.460	1.14 ^{NS}	0.3524
Tempo x Pressão	4	1310.677	0.68 ^{NS}	*****
Temperatura x Pressão	1	2263.327	1.18 ^{NS}	0.2840
Tempo x Temp x Pressão	4	758.7450	0.40 ^{NS}	*****
Resíduo	38	72832.28		

Número de Dados = 60

Média Geral = 76.910

Coef. de Variação = 56.923

GL = grau de liberdade

Temp = temperatura

NS = Não significativo

*significância a 1% de probabilidade

Analisando-se as perdas, pelo método de Tukey, apenas o tempo causou alterações significativas (Tabela 15). Percebemos que os valores são semelhantes na primeira semana, do 7^o ao 14^o dia e, a partir desse período, as perdas mantiveram-se semelhantes e estáveis até o último dia de análise. A pressão causou perdas mais acentuadas no conteúdo de ácido ascórbico. A média do conteúdo de vitamina C

para a polpa tratada foi de 52 mg de ácido ascórbico/100 mL e para a polpa-controle foi de 92 mg de ácido ascórbico/100 mL. Contudo, essas alterações não são significativas e são menores que as provocadas pelo tratamento térmico convencional. O tratamento de HHP permite uma melhor retenção dos níveis de vitamina C em suco de laranja, comparando ao suco pasteurizado (POLYDERA et al., 2004). A curva de tendência apresentada na Figura 12 confirma que as perdas de vitamina C foram constantes ao longo do tempo de armazenamento.

Tabela 15 - Análise de média e variância do conteúdo de ácido ascórbico/100 mL em relação a tempo de armazenamento em polpa de mamão pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade

Tempo (dias)	Médias (Comparações 5%)
0	133.5917 ^a
7	98.5125 ^{ab}
14	64.5667 ^{bc}
21	43.9917 ^c
28	43.8900 ^c

Q(.050, 38)= 4.049 Dms = 51.1774

Fernandez-Garcia et al. (2001) encontraram que o tratamento de HHP e estocagem por 21 dias a 4 °C não causa diferenças significativas na capacidade antioxidante, vitamina C e carotenóides em suco de laranja e suco de laranja-limão-cenoura quando comparadas a sucos não tratados. Da mesma forma, Fernandez-Garcia et al. (2000, 2001), trabalhando com suco de maçã e purê de tomate, relataram igual, ou melhor, retenção na capacidade antioxidante dos produtos tratados com alta pressão após 1 mês de estocagem a 4 °C comparados com amostras não tratadas. Marchi et al (2003) relataram uma perda de 70,7% no conteúdo de vitamina C em isotônico de maracujá (*Passiflora edullis Sims. F. flavicarpa Deg.*) submetido a pasteurização comparado com a bebida fresca. O determinante das variações no conteúdo de vitamina C é o tempo de armazenamento da fruta (BRUNINI et al, 2002). A pressão não causa alterações significativas no conteúdo de vitamina C em suco de laranja e suco misto (laranja-limão-cenoura) (BUTZ et al., 2003). Polydera et al. (2003) comprovaram a vantagem do tratamento de pressão sobre o sistema de pasteurização com calor, relatando um incremento na vida de prateleira de 57% em suco de laranja pressurizado e 27% para o mesmo suco submetido a pasteurização.

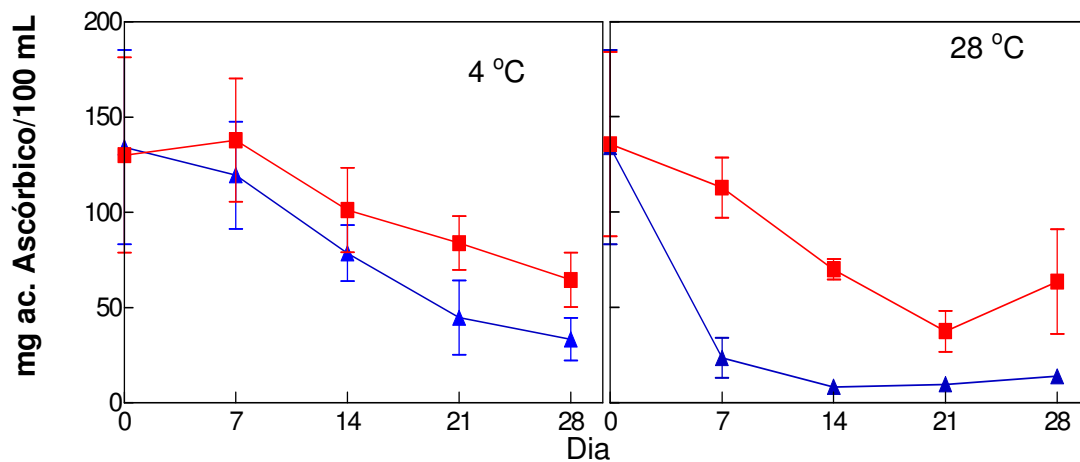


Figura 10 - Variação do conteúdo de vitamina C (■ Controle ▲ Pressão MPa) da polpa de mamão ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.

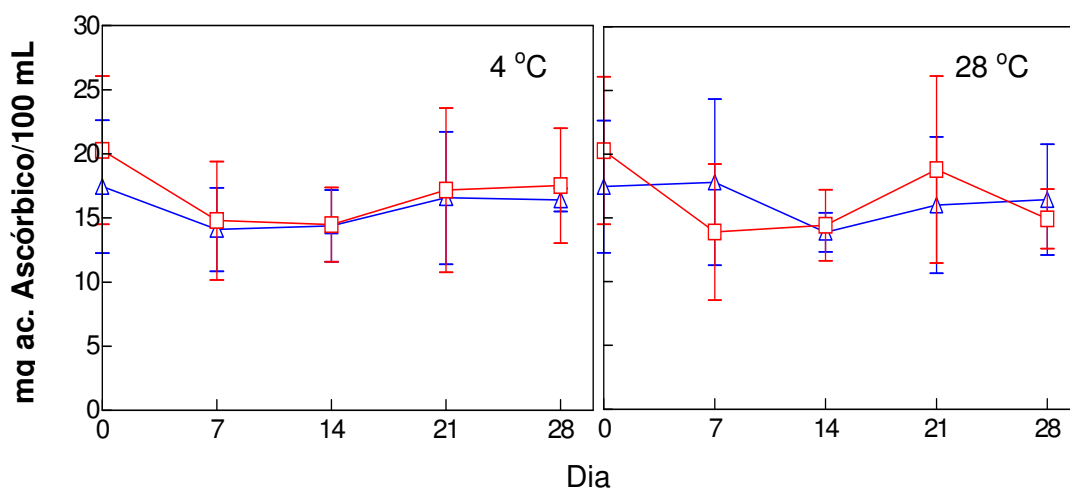


Figura 11 - Variação do conteúdo de vitamina C (□ Controle △ Pressão MPa) da polpa de manga ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.

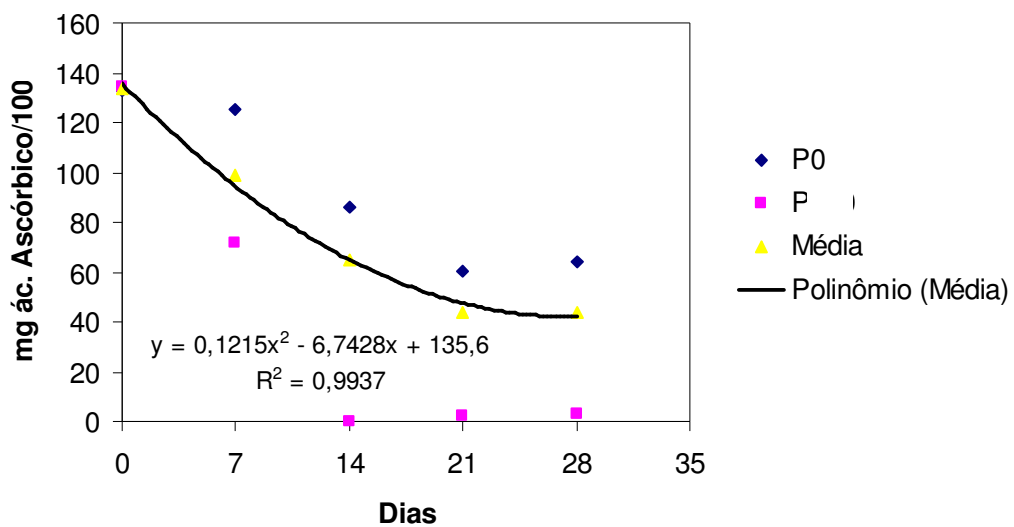


Figura 12 -Curva de tendência para as alterações no conteúdo médio de ácido ascórbico na polpa de mamão (tratada- P e não tratada – P0) ao longo de 28 dias de armazenamento.

Analisando a Figura 11, observamos variações no conteúdo de vitamina C para a polpa de manga. Na polpa-controle, os valores decresceram 16,9% sob temperatura de 4 °C, enquanto sob 28 °C essas perdas foram de 18,83%. No entanto, na polpa submetida ao tratamento de pressão a retenção desse nutriente foi melhor sob temperatura de 28 °C em que as perdas limitaram-se a 6,93%, comparando com 9,56% sob refrigeração. Porém essas variações não demonstraram diferenças estatisticamente significante em nenhum dos fatores analisados (Tabela 16).

Tabela 16 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores do conteúdo de ácido ascórbico/100 mL em polpa de manga submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrado	F	Significância
Tempo	4	151.9408	1.51 ^{NS}	0.2194
Temperatura	1	0.7141500e-01	0.00 ^{NS}	*****
Pressão	1	5.624282	0.22 ^{NS}	*****
Tempo x Temperatura	4	11.88071	0.12 ^{NS}	*****
Tempo x Pressão	4	35.22678	0.35 ^{NS}	*****
Temperatura x Pressão	1	3.178602	0.13 ^{NS}	*****
Tempo x Temp x	4	21.52412	0.21 ^{NS}	*****
Pressão				
Resíduo	38	957.5317		

Número de Dados = 60

Média Geral = 16.363

Coefficiente de Variação = 30.678

NS = Não significativo

A vitamina C na forma reduzida é conhecida como ácido ascórbico ou ácido L-ascórbico e, na forma oxidada, como ácido L-dehidroascórbico. O ácido L-ascórbico é um composto biologicamente ativo, instável, fácil e reversivelmente oxidado a ácido L-dehidroascórbico, também biologicamente ativo (Figura 13) (BOBIO & BOBIO, 1992; PINTO, 2006). A vitamina C é um derivado de hexose, sintetizado por vegetais e pela maioria dos animais a partir da glicose e da galactose. O homem, outros primatas, alguns morcegos e algumas espécies de aves, entretanto, não possuem a enzima L-gulonolactona oxidase que participa da biossíntese da vitamina C ou do ascorbato, sendo necessária a ingestão dessa vitamina (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2002). Devido à grande disponibilidade, as frutas são fontes muito importantes de vitamina C na dieta alimentar (PINTO, 2006).

Os principais fatores que podem afetar a degradação da vitamina C em sucos de fruta incluem o tipo de processamento, condições de estocagem, tipo de embalagem, oxigênio, luz, catalisadores metálicos, enzimas, pH. Alguns autores também relatam a influência da concentração de sais e de açúcar, concentração inicial de ácido ascórbico e carga microbiana (TANNEBAUM et al., 1985; LEE & CHEN, 1998; LEE & COATES, 1999).

As reações de degradação da vitamina C em sucos de fruta processados são predominantemente de natureza não-enzimática e podem seguir dois caminhos consecutivos e/ou paralelos: aeróbico e anaeróbico (LEE & COATES, 1999), embora alguns autores relatem que os mecanismos envolvidos na degradação dessa vitamina ainda não estejam totalmente esclarecidos (TANNENBAUM et al., 1985). Em sucos não processados, também pode ocorrer degradação do ácido ascórbico pela oxidação enzimática (LEE & COATES, 1999). Em condições aeróbicas, o ácido ascórbico é transformado em ácido dehidroascórbico, que passa a ácido 2,3-dicetogulônico, produzindo, finalmente, hidroximetilfurfural (HMF) (NAGY, 1980;). O HMF produzido pode ser originado da reação de degradação do ácido ascórbico e/ou de açúcares com aminoácidos, levando à formação de compostos escuros, responsáveis pelo escurecimento do suco (*browning*) (SHAW et al., 1993; SOLOMON et al., 1995; QUEIROZ & MENEZES, 2005). Em condições anaeróbicas, o ácido ascórbico decompõe-se em ácido 2,5-dihidro-2-furanóico, que passa a dióxido de carbono e furfural. O furfural sofre polimerização como um aldeído ativo e pode se combinar com aminoácidos, contribuindo, também, para o escurecimento do suco (SHAW, 1993; SOLOMON et al., 1995). Em sucos estocados em embalagem hermeticamente fechada, a perda de vitamina C ao longo da vida-de-prateleira ocorre principalmente por via anaeróbica (SHAW et al., 1993). Compostos indesejáveis da degradação do ácido ascórbico, como furfural e HMF, têm sido altamente correlacionados com o escurecimento de sucos de fruta levando, ainda, à deterioração do sabor e da qualidade, aliada à redução da vida-de-prateleira e à perda do valor nutricional (SOLOMON et al., 1995).

A presença de oxigênio é um importante fator, que pode influenciar a qualidade e estabilidade dos sucos de fruta. O oxigênio pode estar presente dissolvido no produto, no espaço livre da embalagem ou pode permear através do material da

embalagem. Os efeitos adversos do oxigênio em sucos de fruta têm sido relatados por muitos autores e relacionados à degradação do ácido ascórbico e ao escurecimento não-enzimático, que podem levar à redução da estabilidade desse produto (SOLOMON et al., 1995; QUEIROZ & MENEZES, 2005). Alguns autores afirmam que a presença do oxigênio dentro da embalagem de sucos de fruta é responsável pela rápida degradação inicial da vitamina C (Pinto, 2006). O efeito da luz sobre a retenção de ácido ascórbico tem sido pouco investigado, e os resultados encontrados têm sido contraditórios (PINTO, 2006). AHMED et al. (1976) atribuíram mudanças de sabor e perda de ácido ascórbico em suco de laranja não pasteurizado e refrigerado à exposição à luz e em combinação com crescimento microbiano e presença de oxigênio no suco.

Nas frutas, as enzimas responsáveis pela destruição do ácido ascórbico não estão em contato direto ele; porém, quando as frutas sofrem algum tipo de dano, como ocorre durante o descascamento, ou quando são cortadas e misturadas durante a homogeneização, ocorre desorganização celular, que permite o contato do substrato com a enzima, aumentando, assim, a oxidação do ácido ascórbico (NAGY, 1980). Isso pode justificar o fato de que, mesmo a pressão hidrostática não sendo a causa direta para as perdas da vitamina C, pode haver uma diminuição desse nutriente durante o processamento e armazenamento.

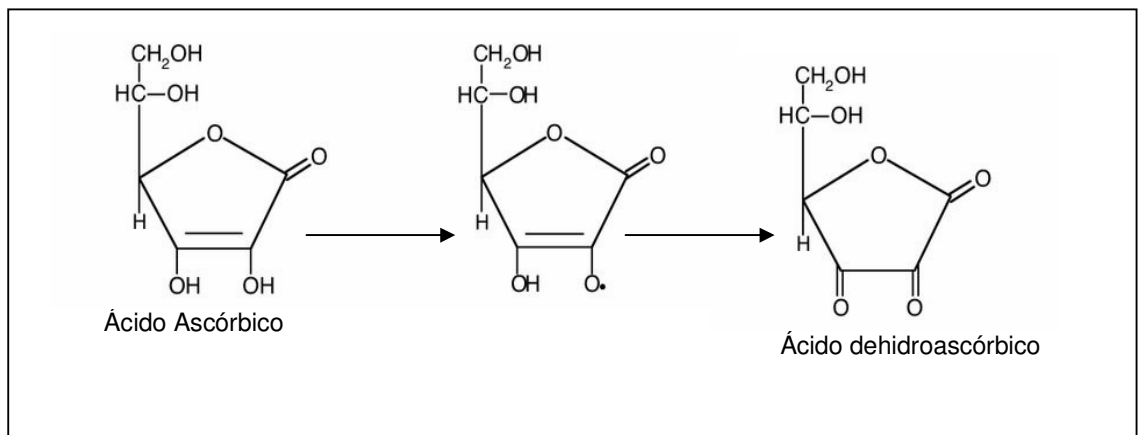


Figura 13 - Estrutura química do ácido ascórbico (vitamina C) e reação de oxidação produzindo ácido dehidroascórbico.

Fonte: http://it.wikipedia.org/wiki/Acido_ascorbico.htm

2.4 Análise do conteúdo de β -caroteno

A vitamina A, também conhecida como axeroftal ou retinol, pode ser encontrada em vários alimentos, porém a forma livre ou de ésteres estão presentes apenas em animais; nos vegetais, são encontradas as pró-vitaminas A, que são substâncias carotenóides, principalmente α , β , γ -carotenóides. A Figura 14 ilustra a estrutura do β -caroteno e do retinol (Bobbio & Bobbio, 1992). Neste estudo, foi analisado o conteúdo de β -caroteno nas polpas de mamão e manga após o tratamento com MPa por min e, também, foi verificado como o conteúdo desse nutriente se manteve após 28 dias de armazenamento sob as temperaturas de 4 e 28 °C. Na polpa de mamão, podemos verificar (figura 15) que a variações foram um pouco maiores para a polpa sem tratamento (controle). Sob temperatura de armazenamento de 4 °C, a média do conteúdo de β -caroteno na polpa-controle foi de 833,29 μg de β -caroteno/100 mL e na polpa tratada foi de 846,95 μg de β -caroteno/100 mL. Já nas polpas armazenadas a 28 °C, as médias foram de 707,60 μg de β -caroteno/100 mL e 833,29 μg de β -caroteno/100 mL, para a polpa-controle e a tratada, respectivamente. Podemos concluir que, não importando a temperatura de armazenamento, a pressão foi vantajosa na conservação do conteúdo de β -caroteno. Através das análises estatísticas (Tabela 17), observamos que não houve diferenças significativas em nenhum fator de variação.

Tabela 17 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores do conteúdo μg de β -caroteno/100 mL em polpa de mamão submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrado	F	Significância
Tempo	4	594350.0	1.98 ^{NS}	0.1166
Temperatura	1	72815.60	0.97 ^{NS}	*****
Pressão	1	72815.60	0.97 ^{NS}	*****
Tempo x Temperatura	4	23124.08	0.08 ^{NS}	*****
Tempo x Pressão	4	23124.08	0.08 ^{NS}	*****
Temperatura x Pressão	1	47057.92	0.63 ^{NS}	*****
Tempo x Temp x Pressão	4	207446.0	0.69 ^{NS}	*****
Resíduo	38	2846404.		

Número de Dados = 60

Média Geral = 805.29

Coefficiente de Variação = 33.987

GL = grau de liberdade

Temp = temperatura

NS = Não significativo

As perdas podem ser explicadas devido ao fato de que a vitamina A é facilmente destruída pelo oxigênio, havendo inicialmente a formação de epóxidos, que podem sofrer modificações posteriores. Em ausência de oxigênio e sob temperaturas elevadas, poderá haver reação de isomerização. O retinol é facilmente oxidado, numa reação reversível ao aldeído correspondente, denominado retinaldeído ou retineno (Bobbio & Bobbio, 1992). Uma perda acentuada no conteúdo de carotenóides em suco de maracujá pode ser observada após 14 dias de armazenamento, com estabilização do decréscimo a partir desse dia, independente da presença de oxigênio. Porém, o suco de maracujá fortificado com vitamina C apresenta melhor retenção desse nutriente, o que pode ser atribuído à capacidade de proteção oxidativa da vitamina C (TALCOOT et al., 2003).

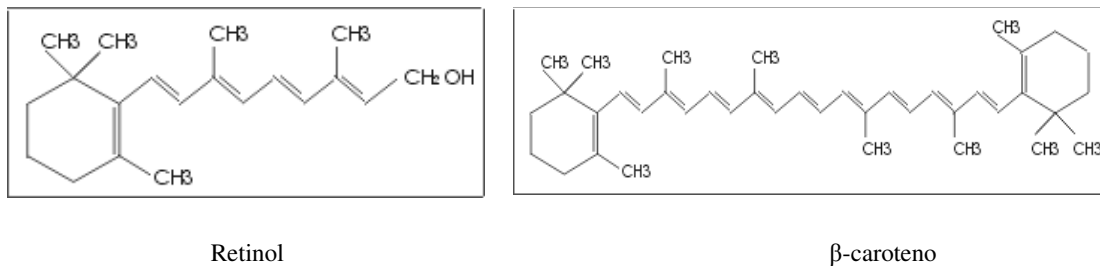


Figura 14 - Estrutura química do retinol e do β -caroteno.

www.nutrinfo.com.ar/pagina/info/vita0.html

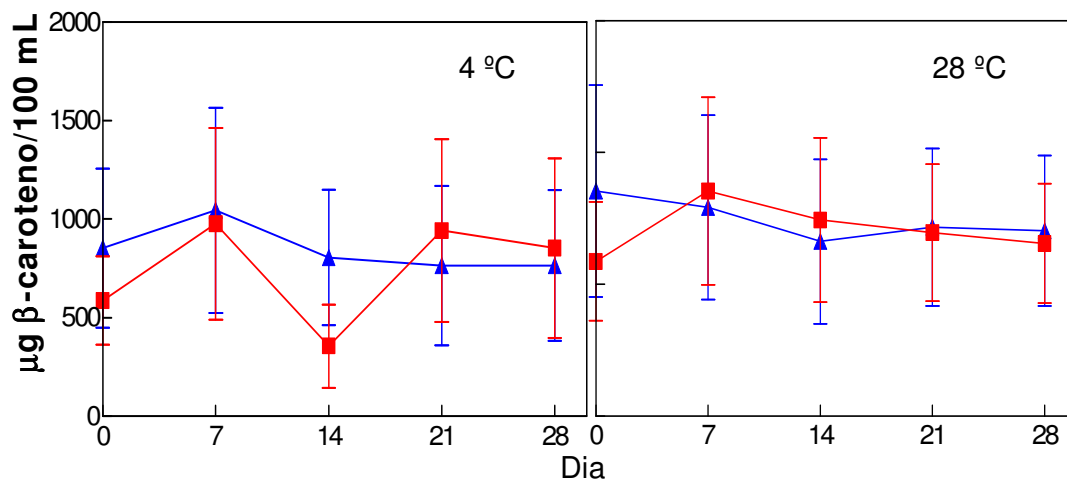


Figura15 - Variação do conteúdo de β -caroteno (■ Controle Pressão ▲ MPa) em polpa de mamão ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.

Na Figura 16, podemos analisar as alterações desse nutriente na polpa de manga. A polpa-controle armazenada a 4 °C demonstrou uma perda de 24,71% no conteúdo de β -caroteno (média de 204,48 μg de β -caroteno/100 mL). Na polpa tratada, a perda foi de 19,40% (média de 253,46 μg de β -caroteno/100 mL); portanto, semelhante ao observado para a polpa de mamão o tratamento com a pressão hidrostática favoreceu na manutenção desse nutriente. Na polpa armazenada a 28 °C, o comportamento das variações ocorreu de forma diferente ao observado na polpa de mamão. A polpa controle demonstrou uma melhor retenção do nutriente, em que as perdas foram de 15,25% (230,46 μg de β -caroteno/100 mL) na polpa controle e 33,7% (208,69 μg de β -caroteno/100 mL) na polpa tratada. A maior razão para perdas do conteúdo de carotenóides nos alimentos é a oxidação, porém outros fatores, como exposição à luz, tipo de matriz alimentícia, presença de enzimas, disponibilidade de água e presença de antioxidantes, podem influenciar no processo (BURTON, 1989; GOLDMAN et al., 1983). Analisando estatisticamente os dados deste estudo, não foram observadas diferenças significativas (Tabela 18).

Tabela 18 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores do conteúdo μg de β -caroteno/100 mL em polpa de manga submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrado	F	Significância
Tempo	4	85307.10	2.24 ^{NS}	0.0831
Temperatura	1	1390.091	0.30 ^{NS}	*****
Pressão	1	2873.184	0.15 ^{NS}	*****
Tempo x Temperatura	4	21474.93	0.56 ^{NS}	*****
Tempo x Pressão	4	18762.26	0.49 ^{NS}	*****
Temperatura x Pressão	1	19024.64	2.00 ^{NS}	0.1658
Tempo x Temp x Pressão	4	17157.86	0.45 ^{NS}	*****
Resíduo	38	362137.2		

Número de Dados = 60

Média Geral = 224.39

Coefficiente de Variação = 43.505

GL = grau de liberdade

Temp = temperatura

NS = Não significativo

Não foram observadas alterações significativas nesse nutriente, sendo que outros estudos relatam resultados semelhantes (TAUSCHER, 1995). Mesmo após 60 min de tratamento de HHP (600 MPa) em tomates, nenhuma mudança foi observada na concentração de licopeno ou β -caroteno (principais carotenóides do tomate). Em tratamento de alta temperatura (95 °C por 60 min) também não houve alteração

dessas substâncias quando comparadas ao controle a 25 °C. Esses resultados sugerem que não há nenhuma indução de isomerização ou oxidação pelos tratamentos. Era esperado que o conteúdo de licopeno não fosse alterado pelo tratamento de HHP, pois isômeros geométricos são formados por ruptura de ligações covalentes, as quais não são afetadas pela pressão (TAUSCHER, 1995). Características de cor devido a pró-vitamina A (caroteno) e xantofilas são tipicamente sensíveis ao oxigênio, ao calor e à luz, e sua estabilidade pode ser influenciada pela pasteurização térmica, envolvendo condições e duração do armazenamento (TALCOTT et al., 2003). Isso é um ponto muito positivo para a utilização da tecnologia de HHP para conservação de alimentos ricos nesse nutriente. Concentrações estáveis também foram observadas após o tratamento do calor em tomates (TAUSCHER, 1995). No entanto, a estabilidade dos pigmentos pode ser explicada pela estabilidade de efeitos pela matriz; juntamente com os tecidos, os pigmentos são muitas vezes compartimentalizados e, dessa maneira, protegidos de influências adversas (BUTZ et al., 2002).

A temperatura é um grande interferente no conteúdo de β -caroteno. Em polpa de acerola congelada, ocorre uma perda de 20% no conteúdo desse nutriente após o terceiro mês de armazenamento; no entanto, as amostras permaneceram sem alterações significativas após esse período, e somente demonstraram novas alterações após o 13^o mês, quando o decréscimo foi equivalente a 30%, a variação no teor de β -caroteno foi de 0,11 e 0,20 $\mu\text{g/g}$ após congelamento e estocagem (AGOSTINI-COSTA et al., 2003). Cavalcante (1991), num estudo sobre a estabilidade dos carotenóides em polpa de pitanga congelada de forma lenta (6 h), verificou uma perda de 63% no conteúdo de β -caroteno após 90 dias de armazenamento. É importante lembrar que existem vários tipos de carotenóides nas frutas, Cano & Ancos (1994) encontraram 14 ou 15 tipos diferentes de carotenóides em manga, acreditando que o mais abundante era o β -caroteno. O conteúdo também é muito variável. Cavalcante (1991) encontrou valores de vitamina A que variam de 720 a 4540 UI/100g de acerolas *in natura* obtidas nos estados de São Paulo e Pernambuco. Esses fatores recebem influência do grau de maturação, pH e regionalidade de cada fruta, e estão diretamente ligados ao potencial vitamínico da polpa (AGOSTINI-COSTA et al., 2003).

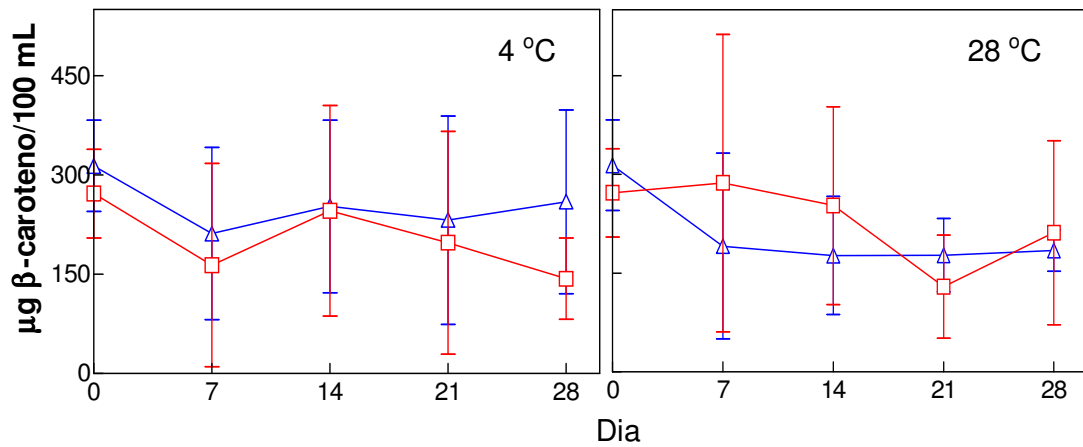


Figura 16 - Variação do conteúdo de β -caroteno (□ Controle \triangle Pressão MPa) em polpa de manga ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.

2.5 Análise da Acidez total titulável (ATT) expressa em ácido cítrico

As polpas pressurizadas a MPa por minutos e as polpas-controle (sem tratamento com pressão) foram analisadas quanto ao conteúdo de ácido cítrico, assim como houve repetições semanais dessas dosagens durante 28 dias de armazenamento sob as temperaturas de 4 e 28 °C.

A ATT foi analisada por ser um importante parâmetro para indicar a adequação dos processos de conservação de frutas (SILVA, et. al, 2005). O conteúdo de ácido cítrico aumentou nas polpas de mamão e manga durante a estocagem sob as duas temperaturas (Figura 17 e 18). As modificações mostraram-se proporcionais entre a polpa tratada e a controle. Houve aumento no conteúdo de ácido cítrico durante o armazenamento de frutas, semelhante aos encontrados neste estudo, e foram relatados por Brunini et al (2002), estudando alterações em polpa de manga congelada.

Observamos, porém uma variação maior nas polpas armazenadas a 28 °C, em que para o mamão, na polpa pressurizada, ocorreu uma menor alteração dessa característica, demonstrando a eficiência do tratamento de HHP para sua conservação dessa característica. Nas polpas armazenadas a 4 °C, o aumento para o mamão foi de 12,86% na polpa-controle e de 23,8% na polpa pressurizada; na polpa de manga ocorreu um aumento de 4,9% na polpa-controle, na polpa tratada, 1,8%. No entanto os resultados de alteração no conteúdo de ácido cítrico, para a polpa de mamão e manga, tratada ou não, em ambas as temperaturas de armazenamento, no período de 28 dias, não foram significativos. Marchi et al. (2003), assim como visto neste trabalho, não encontraram alterações significativas no valor da acidez total titulável em isotônico de maracujá pasteurizado estocado a diferentes temperaturas (ambiente e geladeira). As análises estatísticas podem ser visualizadas nas Tabelas 19 e 20.

Tabela 19 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores do conteúdo de ácidos totais tituláveis em polpa de mamão submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrado	F	Significância
Tempo	4	3.366444	2.02 ^{NS}	0.1109
Temperatura	1	2.983740	1.79 ^{NS}	0.1887
Pressão	1	2.038727	1.22 ^{NS}	0.2755
Tempo x Temperatura	4	1.044994	0.63 ^{NS}	*****
Tempo x Pressão	4	0.4943725	0.30 ^{NS}	*****
Temperatura x Pressão	1	1.795740	1.08 ^{NS}	0.3056
Tempo x Temp x Pressão	4	0.5024192	0.30 ^{NS}	*****
Resíduo	38	1.665299		

Número de Dados = 60

Média Geral = 2.5837

Coeficiente de Variação = 49.947

GL = grau de liberdade

NS = Não significativo

Temp = temperatura

Tabela 20 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores do conteúdo de ácidos totais tituláveis em polpa de manga submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrado	F	Significância
Tempo	4	3.730110	0.54 ^{NS}	*****
Temperatura	1	4.867802	2.82 ^{NS}	0.1015
Pressão	1	4.676042	2.71 ^{NS}	0.1082
Tempo x Temperatura	4	3.713323	0.54 ^{NS}	*****
Tempo x Pressão	4	2.235583	0.32 ^{NS}	*****
Temperatura x Pressão	1	1.962042	1.14 ^{NS}	0.2933
Tempo x Temp x Pressão	4	1.176117	0.17 ^{NS}	*****
Resíduo	38	65.66134		

Número de Dados = 60

Média Geral = 3.1578

Coeficiente de Variação = 41.627

GL = grau de liberdade

NS = Não significativo

Temp = temperatura

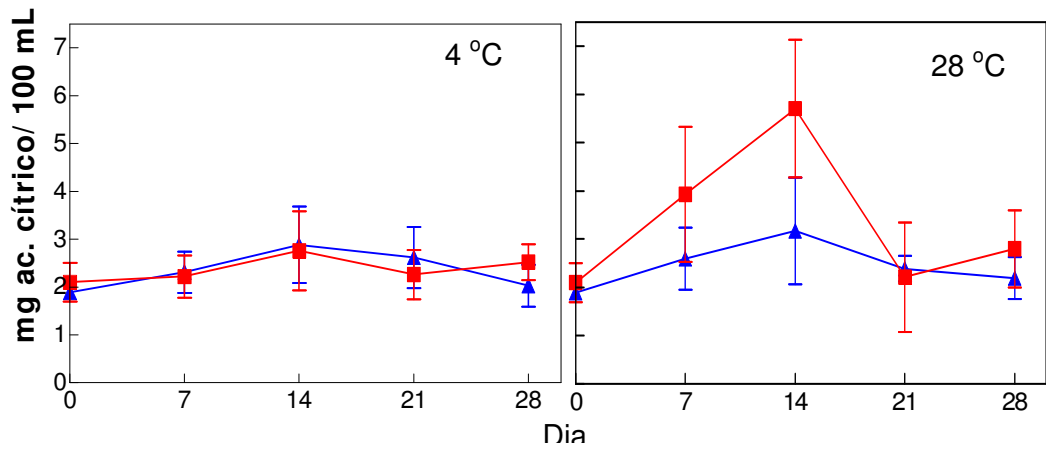


Figura 17 - Variação do conteúdo ácidos totais tituláveis expressos em mg de ácido cítrico (■ Controle ▲ Pressão 400) em polpa de mamão ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.

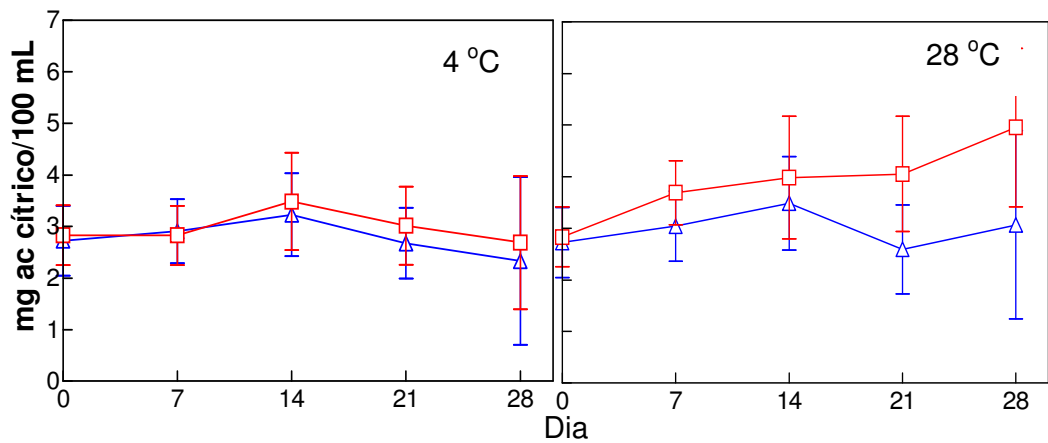


Figura 18 - Variação do conteúdo ácidos totais tituláveis expressos em mg de ácido cítrico (□ Controle △ Pressão 400 MPa) em polpa de manga ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.

2.6 Análise do valor de pH

O pH, ou potencial de hidrogênio iônico, é um índice que indica a acidez, neutralidade ou alcalinidade de um meio qualquer. As polpas de frutas foram submetidas a análise do valor de pH imediatamente após o tratamento; foram armazenadas a 4 e 28 °C e, a cada semana o valor de pH era novamente dosado. Essas análises foram feitas com polpa sem tratamento como controle.

Os sucos de frutas normalmente apresentam um pH baixo, e isso os torna bons candidatos para a preservação pelo tratamento por alta pressão, pois, mesmo se os esporos de microrganismos resistirem ao tratamento da HHP, sua germinação pode ser inibida devido a essa característica.

Neste estudo, a polpa não tratada tornou-se mais ácida durante o período de estocagem, tanto a de mamão quanto a de manga, nas duas temperaturas de armazenamento (Figuras 19 e 21). Isso provavelmente ocorre devido à não alteração de estruturas proteicas, como enzimas e proteínas de membrana (como as dos microrganismos), grandes causadoras de deterioração dos alimentos e causadoras da diminuição do pH. Talcott et al. (2003) não observaram alterações no pH em suco de maracujá pasteurizado durante o armazenamento de 28 dias, relatando que isso se deve à ausência de esporulação de microrganismos.

Analisando os dados estatisticamente (Tabela 21), as alterações nos valores de pH para a polpa de mamão foram significativas apenas quando analisados os fatores pressão e tempo isolados, significando que a pressão foi um fator relevante para a conservação da acidez natural da polpa de mamão com nível de significância de 1% de probabilidade. Os valores iniciais de pH eram de 5,06 para a polpa controle e 5,21 para a polpa tratada. Após o período de estocagem, a média dessa característica para a polpa de mamão tratada foi de 4,79 e para a polpa controle foi de 4,47. Portanto, a pressão de MPa foi mais eficiente para conservar as características de acidez natural da polpa.

Tabela 21 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores de pH em polpa de mamão submetida ao tratamento de pressão hidrostática (400 MPa) por 5 minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrado	F	Significância
Tempo	4	3.508950	6.98*	0.0003
Temperatura	1	0.2604167e-01	0.21 ^{NS}	*****
Pressão	1	1.520042	12.10*	0.0013
Tempo x Temperatura	4	0.6533833	1.30 ^{NS}	0.2872
Tempo x Pressão	4	0.4278167	0.85 ^{NS}	*****
Temperatura x Pressão	1	0.2128167e-01	0.17 ^{NS}	*****
Tempo x Temp x Pressão	4	0.2356767	0.47 ^{NS}	*****
Resíduo	38	4.772523		

Número de Dados = 60

Média Geral = 4.6325

Coeficiente de Variação = 7.6501

GL = grau de liberdade

NS = Não significativo

*significância a 1% de probabilidade

Temp = temperatura

Ao longo do período de armazenamento, as polpas vão se tornando mais ácidas, porém não há interações estatisticamente significativas entre as condições de tratamento e de armazenamento. Analisando esses dados na polpa de mamão pelo método de Tukey, os valores de pH apresentaram uma redução já na primeira semana de armazenamento, mantendo-se constante até o 28º dia de análise (Tabela 22).

Tabela 22 - Análise de média e variância pelo método de Tukey em nível de 5% de probabilidade na variação do valor médio de pH de polpa de mamão submetidas ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e armazenadas por 28 dias a temperatura de 4 e 28°C.

Tempo (dias)	Médias (Comparações 5%)
0	5.0842 ^a
7	4.6325 ^b
14	4.5550 ^b
21	4.5242 ^b
28	4.3667 ^b

Os dados de alterações nos valores de pH na polpa de mamão ainda podem ser analisados segundo um gráfico de dispersão (Figura 20), no qual podemos confirmar a linearidade das modificações.

Outro fator que pode levar à queda no valor de pH é a formação de um produto resultante da degradação dos açúcares, reação que ocorre em meio ácido (IBARZ et al., 1999; LEE & NEGY, 1988). Nele (o pH das polpas estudadas variam entre 3,77 e 5,99) os açúcares sofrem desidratação, por um mecanismo que envolve enolização e eliminação alílica (β -eliminação) com formação de um furaldeído (hidroximetilfurfural-HMF, ou furfural), lembrando que esses produtos também podem ser formados em reações de oxidação da vitamina C. O hidroximetilfurfural é o produto da reação quando o substrato inicial é uma hexose, e o furfural quando é uma pentose. O HMF é menos estável do que o furfural e sofre posterior decomposição com a formação do ácido levulínico (BOBBIO & BOBBIO, 1992), levando conseqüentemente à diminuição no valor de pH. A decomposição por hidrólise, a oxidação ou a fermentação podem modificar a concentração de íons hidrogênio e, conseqüentemente, a acidez dos produtos elaborados a base de frutas (Instituto Adolfo Lutz, 1985). Essas reações podem ocorrer por ação de microrganismos, fatores que, como já demonstrado, são eliminados com o tratamento de alta pressão hidrostática.

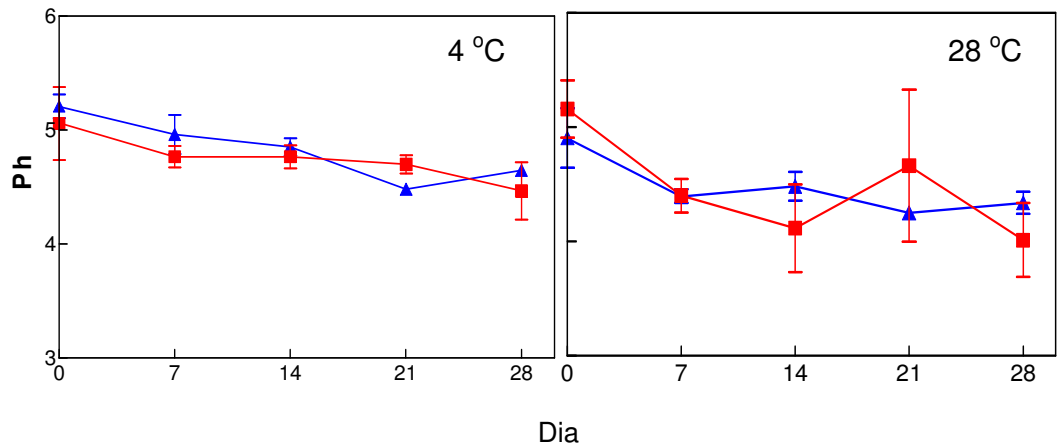


Figura 19 - Variação no valor de H livres (pH) (■ Controle ▲ Pressão 400) em polpa de mamão ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.

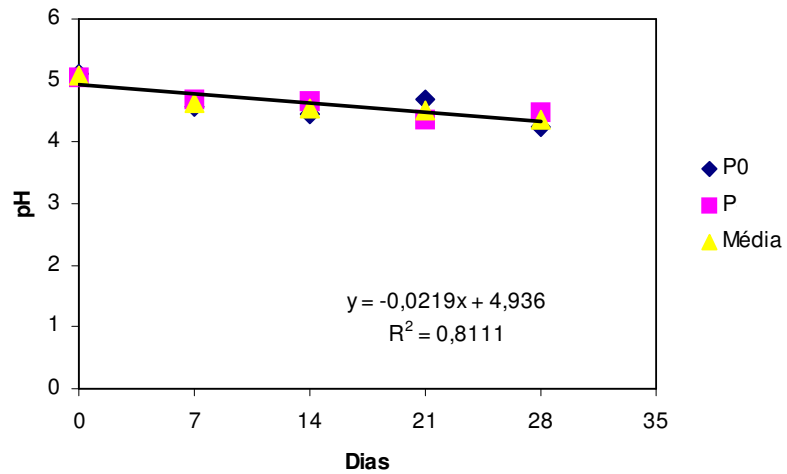


Figura 20 - Gráfico de dispersão e curva de tendência para as alterações nos valores de pH na polpa de manga

Na Figura 21, percebemos uma sutil queda nos valores de pH para a polpa de manga. Contudo, essas alterações não foram estatisticamente significativas (Tabela 23). Os valores de pH encontrados para manga estão dentro dos padrões estipulados por Medlicot et al (1990) para a polpa de manga Tommy-Atkins *in natura* que vão de 2,15 a 4,73.

Tabela 23 - Delineamento experimental em blocos casualizados para os valores de pH em polpa de manga submetida ao tratamento de pressão hidrostática (MPa) por minutos e controle, armazenadas por 28 dias sob temperatura de 4 e 28°C.

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrado	F	Significância
Tempo	4	0.3540567	2.35 ^{NS}	0.0712
Temperatura	1	0.5400000e-03	0.01 ^{NS}	*****
Pressão	1	0.2400000e-03	0.01 ^{NS}	*****
Tempo x Temperatura	4	0.2144767	1.43 ^{NS}	0.2443
Tempo x Pressão	4	0.3234333e-01	0.21 ^{NS}	*****
Temperatura x Pressão	1	0.2400000e-03	0.01 ^{NS}	*****
Tempo x Temp x Pressão	4	0.1371100	0.91 ^{NS}	*****
Resíduo	38	1.429363		

Número de Dados = 60

Média Geral = 4.2723

Coefficiente de Variação = 4.5396

GL = grau de liberdade

NS = Não significativo

Temp = temperatura

As proporções de acidificação foram sempre maiores nas polpas-controle quando comparadas às polpas pressurizadas. Relatando uma acidificação de 11,11% e 1,14% maior na polpa sem tratamento, comparando com a polpa tratada, armazenadas a 28 °C de mamão e de manga, respectivamente. Porém, para a polpa de manga, as alterações não são estatisticamente significantes. O tratamento de HHP, portanto, preservou melhor as características naturais das polpas, fazendo com que a acidificação ocorresse mais lentamente. Esses resultados também são observados em alimentos submetidos a pasteurização. Valores de pH em bebidas estocadas a temperatura ambiente e sob refrigeração permanecem praticamente constantes ao longo de um período de estocagem de 141 dias para isotônico de maracujá pasteurizado (Marchi et al, 2003), observando também, semelhante ao encontrado no presente estudo que, na polpa não tratada houve uma diminuição no valor do pH, ou seja, tornou-se mais ácida em relação à polpa tratada. Assim como observado neste estudo, Parish (1998) também não encontrou variações significativas no valor de pH em suco de laranja submetido ao tratamento de HHP (500 - 700 MPa) durante 16 semanas de armazenamento.

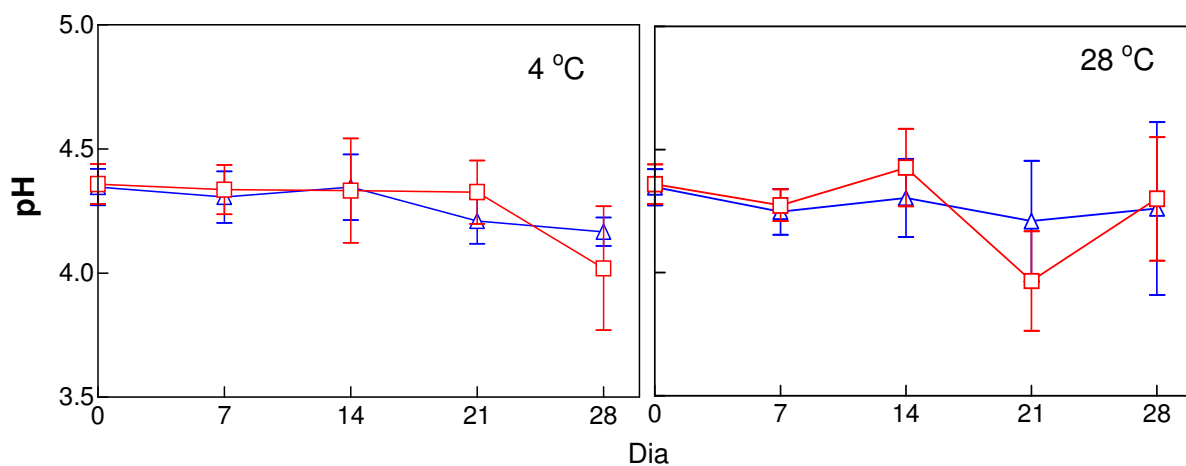


Figura 21 - Variação no valor de H livres (pH) (□ Controle △ Pressão 400 MPa) em polpa de manga ao longo do período de estocagem de 28 dias a 4 e 28 °C.

CONCLUSÕES

- 1- O valor de pressão e o tempo aplicados foram eficientes para a inativação de microrganismos;
- 2- As polpas tratadas mantiveram-se viáveis para o consumo (tempo de prateleira) por 28 dias;
- 4- A temperatura de armazenamento mais favorável para a conservação das características naturais da polpa foi 4 °C;
- 5- O tratamento de HHP não influencia de forma significativa na composição e nos valores nutricionais (Equivalência substancial) das polpas de mamão e manga.

COMENTÁRIO FINAL

Muitos estudos concordam quanto à eficácia do processamento HHP na extensão da vida de prateleira de produtos alimentares, com uma melhor retenção em muitas qualidades (níveis sensoriais, menor taxa de degradação de vitamina C) de sucos de frutas como laranja, maçã, tomate tratados com alta pressão, comparados com não processados ou tratados com a pasteurização convencional (TONELLO et al., 1997, NIENABER & SHELLHAMMER, 2001; PARISH 1998). Porém, poucos estudos têm relatado o efeito da HHP em uma ampla variedade de fatores ao mesmo tempo em determinado alimento. Os mecanismos de interação da HHP com os micronutrientes e as características de equivalência substancial de alimentos submetidos a essa tecnologia ainda não são bem explicados. Ainda permanece inédito o uso dessa tecnologia em as frutas tropicais.

Neste trabalho, confirmamos a eficiência do uso da tecnologia da alta pressão na conservação de alimentos. Através dos resultados podemos dizer que é um processamento que vai ao encontro de um mercado consumidor cada vez mais exigente, visto que, com a HHP, como já bem descrito na literatura e confirmado neste trabalho, é possível produzir alimentos seguros do ponto de vista microbiológico e, ao mesmo tempo, manter suas propriedades nutricionais, aproximando ao máximo os processados dos alimentos *in natura*. Principalmente, devemos enfatizar as vantagens dessa tecnologia em detrimento à pasteurização, método até então, mais utilizado para conservação de polpa de frutas sob o aspecto da preservação das propriedades naturais do alimento.

Finalizando, podemos considerar que o tratamento da HHP é um “achado” de extrema importância para a conservação de alimentos, e agora confirmamos a eficiência dessa tecnologia para a conservação das polpas de mamão e manga; esse método tem uma grande perspectiva de ser utilizado e empregado no setor alimentício, principalmente por pessoas que tenham uma grande visão empreendedora e se preocupem com o fornecimento de alimentos microbiologicamente seguros e nutricionalmente completos.

PERSPECTIVAS

Embora este trabalho tenha englobado as análises (equivalências substanciais e microbiológicas) importantes para se confirmar a eficiência do método de HHP para a conservação de alimentos, é ainda necessário fazer uma análise por um período de armazenamento maior, a fim de confirmar o real tempo de vida de prateleira desses produtos.

Também é importante, para a viabilização do uso dessa tecnologia para a indústria no Brasil, o desenvolvimento de um sistema de pressurização para a produção em larga-escala.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINI-COSTA, Tânia da Silveira; ABREU, Luciana Nobre; ROSSETI, Adroaldo Guimarães. Efeito do congelamento e tempo de estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenóides. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP. v. 25; n. 2; p. 56-58, 2003.

AGRIANUAL. Anuário Estatístico da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2001.

AHMED, A. A.; WATROUS, G.H.; HARGROVE, G.L.; DIMICK, P.S. (1976). Effects of fluorescent light on flavor and ascorbic acid content in refrigerated orange juice and drinks. In: PINTO, Mirella Teixeira. **Estudo da vida de prateleira do suco de laranja concentrado e congelado**. 2006. Dissertação (mestrado em alimentos e nutrição- Programa de pós-graduação em alimentos e nutrição, Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Farmacêuticas), Campus De Araraquara.

ANANTH, V.; DICKSON, J.S.; OLSON, D.G.; MURANO, E.A. (1998). Shelf Life Extension, Safety and Quality of Fresh Pork Loin Treated with High Hydrostatic Pressure. In: CAMPOS, Flávio P., DOSUALDO, Gustavo L., CRISTIANINI, Marcelo. Utilização da tecnologia de alta pressão no processamento de alimentos. **Braslian Journal of food technology**, v. 6, n. 2, p. 351-357, 2003

BENITO, A., VENTOURA, G., CASADEI, M., ROBINSON, T. AND MACKEY, B.. Variation in resistance of natural isolates of Escherichia coli O157 to high hydrostatic pressure, mild heat and other stresses. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 4, p. 1564-1569, 1999.

BERTULANI, C. A. Projeto de física a distancia. Disponível em: <www.ufrj.br/persons/bertulani.html>. Acesso em: 20.agost.2006.

BIGNON, J. Cold Pasteurizers Hiperbar for the Stabilization of Fresh Fruit Juices (1997). In: CAMPOS, Flávio Peckolt, et al. Utilização da Tecnologia de Alta Pressão no processamento de Alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.6, n.2, 2003.

BOBIO, Florinda Orsati; BOBIO, Paulo A. Bobio. **Introdução à química dos alimentos**. 2 ed. São Paulo: Livraria Varela, 1992.

BORGSTRON, G. Principles of food science (1968). In: GAVA, Altair J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 1984. p. 271.

BRUNINI, M. Amália; DURIGAN, José Fernando; OLIVEIRA, Antonio Luis. Avaliação das alterações em polpa de manga "Tommy-Atkins" congeladas. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal- SP- v. 24, n. 3, p. 651-653, 2002.

BURDURLU, Hande Selen; KOCA, Nuay; KARADENIZ, Feryal. Degradation of vitamin C in citrus juice during storage. **Journal of Engineering**. v. 74, p. 211-216, 2006

BURTON, G. W.. Antioxidant action of carotenoids. **Journal Nutrition**, v. 119, n. 1, p. 109-11, 1989.

BUTZ, P., EDENHARDER, R., GARCIA, A. F., FISTER, H., MERKEL, C. & TAUSCHER, B.. Changes in functional properties of vegetables induced by high pressure treatment. **Food research international**, v. 35, p. 295-300, 2002.

BUTZ, P.; & TAUSCHER, B. (1998). Food chemistry under high hydrostatic pressure. In: BUTZ, P.; GARCIA, A. Fernandez; LINDAUER, R.; DIETERICH, S.; BOGNAR, A.; TAUSCHER, B.. Influence of ultra high pressure processing on fruit and vegetable products. **Journal of Food Engineering**, n. 56, p. 233-236, 2003

BUTZ, P.; GARCIA, A. FERNANDEZ; LINDAUER, R.; BOGNÁR, A.; TAUSCHER B. Influence of high processing on fruit and vegetable products. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 233-236, 2003.

CAMPOS, Flávio P., DOSUALDO, Gustavo L., CRISTIANINI, Marcelo. Utilização da tecnologia de alta pressão no processamento de alimentos. **Brasilian Journal of food technology**, v.6, n.2, p. 351-357, 2003.

CANO, Pilar M.; ANCOS, Begofia. Carotenoid and Carotenoid Ester Composition in mango fruit as influenced by processing Method. **Journal Agriculture food and chemistry**, v. 42, p. 2737-2742, 1994.

CASADEI, M.A.; MANÃS, P.; NIVEN, G.W.; NEEDS, E. and MACKEY, B.M. Role of membrane fluidity in pressure resistance of *Escherichia coli* NCTC Z8164. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 12, p. 5965-5972, 2002.

CAVALCANTE, M. L. (1991). Composição de carotenóides e valor de vitamina A em pitanga (*Eugenia uniflora*) e acerola (*Malpighia glabra L.*). In: AGOSTINI-COSTA, Tânia da Silveira; ABREU, Luciana Nobre; ROSSETI, Adroaldo Guimarães. Efeito do congelamento e tempo de estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenóides. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, SP, v. 25, n.2, p. 56-58, 2003.

CHEFTEL, J.C. (1995). Review: high-pressure, microbial inactivation and food preservation. In: MANÃS, P; PAGÁN, R. A REVIEW: Microbial inactivation by new technologies of food preservation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p. 1387-1399, 2005.

COELHO, Gerson Luiz Vieira. Efeitos da Pressão Hidrostática em Alimentos: Aspectos Físico Químico. **Revista Universidade Rural, Ciências Exatas e da Terra**, v. 21, n. 1, p. 105-110, 2002.

DADZIE, B.K. and ORCHARD, J. E. 1997. **Evaluación rutinaria postcosecha de híbridos de bananas y platanos: criterios y métodos**. Roma, Itália. CIRPAC. IPGRI, p.63 (Guia técnicas INIBAP 2), 1997.

DELIZA, R.; ROSENTHAL, A.; ABADIO, F. B. D.; SILVA Carlos H. O.; CASTILLO, C. Application of high pressure technology in the fruit juice processing: benefits perceived by consumers. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 241-246, 2005.

DONSI, G.; FERRARI, G.; DiMATTER, M.; BRUNO, M.C.. High pressure stabilization of orange juice. **Italian Journal of Food Science**, v. 8, n. 2, p. 99-106, 1996.

EARNSHAW, Richard. High pressure food processing. **Nutrition & food science**, n. 2. p. 8-11, 1996.

ELO; M. A., KARJALAINEN H. M.; SIRONEN, R. K.; VALMU, L.; REDPATH, N. T.; BROWNE, G. J.; KALKKINEN, N.; HELMINEN, H. J.; and LAMMI, M. J.. High hydrostatic pressure inhibits the biosynthesis of eukaryotic elongation factor-2. **Journal of Cellular Biochemistry**, Feb 15; v. 94, n. 3, p. 497-507, 2004.

ITSKEVICH, E. S., ZH. EKSP.TEOR. FIZZ 42, p. 1173,1962

EUCLYDES, R.F. **Sistema para análises estatísticas** (SAEG 9.0). FUNARBE, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa – MG, 2004.

EVANGELISTA, José. **Tecnologia de Alimentos**. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 2003.

FERNANDEZ-GARCIA, A.; BUTZ, P., BOGNAR, A. & TAUSCHER, B. (2001). Antioxidative capacity, nutrient content and sensory quality of orange juice and range-lemon-carrot juice in different packaging. In: POLYDERA, Angeliki C., NIKOLAUS, G. Stoforos & PETROS, S. Taoukis. The Effect of Storage on the Antioxidant Activity of Reconstituted Orange Juice Which Had Been pasteurized by High Pressure or Heat. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, p. 783-791, 2004.

FERNANDEZ-GARCIA, A.; BUTZ, P. & TAUSCHER, B. (2000). Does the Antioxidant potential of high pressure treated apple juice changes during storage?. In: POLYDERA, Angeliki C., NIKOLAUS, G. Stoforos & PETROS, S. Taoukis. The Effect of Storage on the Antioxidant Activity of Reconstituted Orange Juice Which Had Been pasteurized by High Pressure or Heat. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, p. 783-791, 2004.

FERNANDES, Patrícia Machado Bueno; DOMITROVIC, Tatiana; K. A. O.; Camilla; KURTENBACH, Eleonora. Genomic expression pattern in *Saccharomyces cerevisiae* cells in response to high hydrostatic pressure. **Febs Letters**, Holanda, v. 556, p. 153-160, 2004.

FERNANDES, Patrícia Machado Bueno ; FARINA, M. ; KURTENBACH, E. . Effect of hydrostatic pressure on the morphology and ultrastructure of wild-type and trehalose synthase mutant cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Letters In Applied Microbiology*, Inglaterra, v. 32, p. 42-46, 2001.

FERNANDES, Patricia P.M. How does yeast respond to pressure? **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. São Paulo, v. 38, p. 1239-1245, 2005.

GAVA, Altair J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 1984. cap VII.

GOLDMAN, M.; HOVED, B.; SAGUY, I. (1983). Decolorization of β -caroteno in model systems simulation dehydrated foods: mechanism and kinetic principles. In: AGOSTINI-COSTA, Tânia da Silveira; ABREU, Luciana Nobre; ROSSETI, Adroaldo Guimarães. Efeito do congelamento e tempo de estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenóides. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, SP, v. 25; n.2; p. 56-58; 2003.

GOULD, G W. Methods for preservation and extension of shelf life. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, p. 51-64, 1996.

HAYASHI, R. (1992). Utilization of pressure in addition to temperature in food science and technology. In: P. BUTZ; GARCIA, A. Fernandez; LINDAUER, R.; DIETERICH, S.; BOGNAR, A.; TAUSCHER, B.. Influence of ultra high pressure processing on fruit and vegetable products. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 233-236, 2003.

HAUBEN, K.J.A.; WUYTACK, E.Y.; SOONTJENS, C.C.F. and MICHIELS, C.W. (1996). High pressure transient sensitization of *Escherichia coli* to lysozyme and nisin by disruption of outer-membrane permeability. In: MANÃS, P; PAGÁN, R. A REVIEW: Microbial inactivation by new technologies of food preservation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p. 1387-1399, 2005.

HENDRICKX, M.; LUDI KHUYZE, L.; VAN den BROECK, I.; WEEMAES, C. Effects of pressure on enzymes related to food quality (review). (1998). In: CAMPOS, Flávio P., DOSUALDO, Gustavo L., CRISTIANINI, Marcelo. Utilização da tecnologia de alta pressão no processamento de alimentos. **Brasilian Journal of food technology**, v.6, n.2, p. 351-357, 2003.

http://it.wikipedia.org/wiki/Acido_ascorbico.htm. Acesso em: 15.agost.2006

HOOVER, D. G., METRICK, C., PAPINEAU, A. M., FARKAS, D. AND KNORR, D.. Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. **Food Technology**, 1989.

IBARZ, A., PAGA´N, J., & GARZA, S. (1999). Kinetic models for colour changes in pear puree during heating at relatively high temperatures. In: BURDURLU, Hande Selen; KOCA, Nuary; KARADENIZ, Feryal. Degradation of vitamin C in citrus juice during storage. **Journal of Engineering**, v. 74, p. 211-216, 2006.

INCAPER/ LSPA/ IBGE. Disponível em: <<http://www.seag.es.gov.br/fruticultura>>. Acesso em: 15. agost. 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos. 4ª ed. São Paulo, v. 1, 533 p., 2005.

Instrução normativa nº 20, de 27 de setembro de 2001. Disponível: <http://www.cpatsa.embrapa.br/pif/uva/instrucaonormativa2027.pdf> . Acesso em 15.agost.2005.

KALICHEVSKY, M. T., KNORR, D., LILLFORD, P. J. (1995). Potential food applications of high pressure effects on ice-water interactions. In: EARNSHAW, Richard. High pressure food processing. **Nutrition & food science**, n. 2, p. 8-11, 1996.

KEUSCH, Peter, 2003. **Demonstration Experiment on Video Felhing's Test**. Objectives: Test for Reducing Sugars, Keto-Enol-Tautomerism, Copper-Tartrate-Complex Disponível em: http://www.chemie.uniregensburg.de/Organische_Chemie/Didaktik/Keusch/D-Fehling-d.htm. Acesso em: 20.agost.2006.

KIMURA, K.; IDA, M.; YOSIDA, Y.; OHKI, K.; FUKUMOTO, T.; & SAKUI, N. (1994). Comparison of keeping quality between pressure-processed jam and heat processed jam: changes in flavor components, hue, and nutrients during storage. In: BUTZ, P.; GARCIA, A. FERNADEZ; LINDAUER, R.; BOGNÁR, A.; TAUSCHER B. Influence of high processing on fruit and vegetable products. **Journal of Food Engineering**. V. 56, p. 233-236, 2003.

KRAMER, B. K.; PULTZ, V. M.; MCCORMICK; J. M. Last Update: January 13, 2006. chemlab.truman.edu/CHEM120Labs/VitaminC.htm. Acessado em: 31.agosto.2006.

LABUZA, T.P. (1982). Kinetics of lipid oxidation in foods. In: LIMA, Janice Ribeiro. **Vida de Prateleira de Amêndoas de Castanha de Caju em Embalagens Comerciais**. Comunicado Técnico. Ministério da agricultura, Pecuária e abastecimento. Fortaleza, 2002.

LEE, H. S. and CHEN, C. S.. (1998). Rates of vitamin C loss and discoloration in clear orange juice concentrate during storage at temperature of 4-24°C. In: PINTO, Mirella Teixeira. **Estudo da vida de prateleira do suco de laranja concentrado e congelado**. 2006. Dissertação (mestrado em alimentos e nutrição- Programa de pós-graduação em alimentos e nutrição, Universidade Estadual Paulista "Júlio De Mesquita Filho" Faculdade De Ciências Farmacêuticas, Campus De Araraquara.

LEE, H. S.; COATES, G. A. (1999). Vitamin C in frozen, fresh squeezed, unpasteurized, polyethylene-bottled, orange juice: a storage study. In: PINTO, Mirella Teixeira. **Estudo da vida de prateleira do suco de laranja concentrado e**

congelado. 2006. Dissertação (mestrado em alimentos e nutrição- Programa de pós-graduação em alimentos e nutrição, Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” Faculdade De Ciências Farmacêuticas, Campus De Araraquara.

LEE, H. S., & NAGY, S. (1988). Relationship of sugar degradation to detrimental changes in citrus juice quality. In: BURDURLU, Hande Selen; KOCA, Nuary; KARADENIZ, Feryal. Degradation of vitamin C in citrus juice during storage. **Journal of Engineering**. v. 74, p. 211-216, 2006.

LIMA, Janice Ribeiro. **Vida de Prateleira de Amêndoas de Castanha de Caju em Embalagens Comerciais**. Comunicado Técnico. Ministério da agricultura, Pecuária e abastecimento. Fortaleza, 2002.

MACDONALD, A.G. (1993). Effects of high hydrostatic pressure on natural and artificial membranes. In: BALNY, C.; HAYASHI, R., HEREMANS, K. and MASSON. High Pressure and Biotechnology. In: MANÃS, P; PAGÁN, R. A REVIEW: Microbial inactivation by new technologies of food preservation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p. 1387-1399, 2005.

MACKEY, B.; FORESTIE`RE, K.; ISAACS, N. S.; STENNING, R.; BROOKER, B. (1994). The effect of high hydrostatic pressure on Salmonella thompson and Listeria monocytogenes examined by electron microscopy. In: MANÃS, P; PAGÁN, R. A REVIEW: Microbial inactivation by new technologies of food preservation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p. 1387-1399, 2005.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. Vitaminas. **Krause, alimentos, nutrição e dietoterapia**. São Paulo: Roca, p. 97-100, 2002.

MANÃS, P. and MACKEY, B.M.. Morphological and physiological changes induced by high hydrostatic pressure in exponential- and stationary-phase cells of Escherichia coli: relationship with cell death. **Applied and Environmental MicrobiologY**, v.70, n. 3, p. 1545–1554, 2004.

MANÃS, P; PAGÁN, R. A REVIEW: Microbial inactivation by new technologies of food preservation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p. 1387-1399, 2005.

MARCHI, Renata; MONTEIRO, Magali; CARDELLO, Helena Maria A. B. Avaliação da vida de prateleira de um isotônico natural de maracujá (*Passiflora edullis Sims. F. vicarpa Deg.*). Brazilian Journal of Food Technology. v.6, n.2, p. 291-300, 2003.

MEDLICOT, A. P.; SIGRIST, J. M. M.; O. S. Y.. (1990). Ripening of Mangoes following low-temperature In: BRUNINI, M. Amália; DURIGAN, José Fernando; OLIVEIRA, Antonio Luis. Avaliação das alterações em polpa de manga "Tommy-Atkins" congeladas. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal- SP, v.24, n.3, p.651-653, 2002.

Ministério da Agricultura, 2002. Disponível em: http://www.seag.es.gov.br/fruticultura_caracterizacaohtm. Acesso em: 10. agost.2006.

MOLINA-HOPNER, A.; DOSTER, W.; VOGEL, R.F. and GANZLE, M.G. Protective effect of sucrose and sodium chloride for *Lactococcus lactis* during sublethal and lethal high-pressure treatments. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 2013-2020, 2004.

NAGY, S.. Vitamin C contents of citrus fruit and their products: a review. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v.28, p. 8-18, 1980

NIVEN, G.W.; MILES, C.A. and MACKAY, B.M. The effects of hydrostatic pressure on ribosome conformation in *Escherichia coli*: an in vivo study using differential scanning calorimetry. **Microbiology**, v. 145, p. 419-425, 1999.

OGAWA, H.; FUKUHISA, K.; FUKUMOTO, H.; HAYASH, R.. High pressure stabilization of orange juice. (1987). In: PARISH, M. E. Orange Juice Quality After Treatment by Thermal Pasteurization or Isostatic High Pressure. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, v. 31, p. 439-442, 1998.

PAGÁN, R. and MACKEY, B. M.. Relationship between membrane damage and cell death in pressure-treated *Escherichia coli* cells: differences between exponential and stationary phase cells and variation among strains. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 7, p. 2829-2834, 2000.

PARISH, M. E. Orange Juice Quality After Treatment by Thermal Pasteurization or Isostatic High Pressure. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, v. 31, p. 439-442, 1998.

PARISH, M. & OLSON, I. (1994). Isostatic high pressure processing of orange juice. In: PARISH, M. E. Orange Juice Quality After Treatment by Thermal Pasteurization or Isostatic High Pressure. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, v. 31, p. 439-442, 1998.

PATTERSON, M. and LOAHARANU, P. (2000). Irradiation In The Microbiological Safety and Quality of foods. In: MANÃS, P; PAGÁN, R. A REVIEW: Microbial inactivation by new technologies of food preservation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p. 1387-1399, 2005.

PERES, Paulo Sérgio. ABPO: as embalagens e o grau Brix das frutas. Disponível em: <http://www.celulose.com.br/Colunista/colunista.asp?IDAssuntoMateria=177&Iditem=96>. Acesso em: 17.out.2006

PERRIER-CORNET, J.M., HAYERT, M and GERVAIS, P. Yeast cell mortality related to a high-pressure shift: occurrence of cell membrane permeabilization. **Journal of Applied Microbiology**, v. 87, p. 1-7, 1999.

PETERS, W.S., HAGEMANN, W. e DERI TOMOS, A. What makes plants different? Principles of extracellular matrix function in 'soft' plant tissues. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v.125, p. 151-167, 2000.

PETRUS, R. R. Desenvolvimento de processo e avaliação de estabilidade de bebida isotônica acondicionada em garrafa asséptica. (2000). In: MARCHI, Renata; MONTEIRO, Magali; CARDELLO, Helena Maria A. B. Avaliação da vida de prateleira de um isotônico natural de maracujá (*Passiflora edullis Sims. F. vicarpa Deg.*). Brazilian **Journal of Food Technology**, v.6, n. 2, p. 291-300, 2003.

PINHEIRO, A. B. V.; Lacerda, E. M. A.; BENZECRY, E. H.; GOMES, M.C; COSTA, V. M.. **Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras**. 4ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2000.

PINTO, Mirella Teixeira. **Estudo da vida de prateleira do suco de laranja concentrado e congelado**. 2006. Dissertação (mestrado em alimentos e nutrição- Programa de pós-graduação em alimentos e nutrição, Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” Faculdade De Ciências Farmacêuticas), Campus De Araraquara.

POLYDERA, Angeliki C., NIKOLAUS, G. Stoforos & PETROS, S. Taoukis. The Effect of Storage on the Antioxidant Activity of Reconstituted Orange Juice Wich Had Been pasteurized by High Pressure or Heat. **Internation Journal of Food Science and Technology**, v. 39, p. 783-791, 2004.

POLYDERA, A. C.; STOFOROS, N. G.; TAOUKS, P. S. Comparative shelf life and vitamin C loss kinetics in pasteurized and hydrostatic pressure processed reconstituted orange juice. **Journal of Food Engineering**, v. 60, p. 21-29, 2003.

Portaria nº 451, de 19 de setembro de 1997. Regulamento Técnico Princípios Gerais para o Estabelecimento de Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos SVS/MS -Ministério da Saúde. Disponível em: < www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 16. julh.2005

QUEIROZ, C. E.; MENEZES, H. C. (2005). Suco de laranja. In: PINTO, Mirella Teixeira. **Estudo da vida de prateleira do suco de laranja concentrado e congelado**. 2006. Dissertação (mestrado em alimentos e nutrição- Programa de pós-graduação em alimentos e nutrição, Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” Faculdade De Ciências Farmacêuticas), Campus De Araraquara.

RDC. Resolução janeiro de 2001. Disponível em: < www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 08.set.2006. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

RITZ, M., FEULET, M., ORANGE, N. AND FEDERIGHI, M.. Effects of high hydrostatic pressure on membrane proteins of *Salmonella typhimurium*.. **International Journal of Food Microbiology**, v. 55, p. 115, 2000.

SANTOS, Beja. Alimentos irradiados: temores justificados ou tempestade em copo de água? Disponível em : http://www.consumidor.pt/pls/ic/doc_revistas? Acesso em: 28.agost.2006.

Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento, Aquicultura e Pesca. Disponível em: <<http://www.seag.es.gov.br/fruticultura.htm>> acessado em: 29.set.2006

SHAW, P.E.; NAGY, S.; ROUSEFF, R. L. (1993). The shelf life of citrus products. In: PINTO, Mirella Teixeira. **Estudo da vida de prateleira do suco de laranja concentrado e congelado**. 2006. Dissertação (mestrado em alimentos e nutrição- Programa de pós-graduação em alimentos e nutrição, Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” Faculdade De Ciências Farmacêuticas), Campus De Araraquara.

SHIGEHISA, T., OHMORI, T., SAITO, A., TAJI, S. AND HAYASHI, R. (1991). Effects of high hydrostatic pressure on characteristics of pork slurries and inactivation of microorganisms associated with meat products. In: MANÃS, P; PAGÁN, R. A REVIEW: Microbial inactivation by new technologies of food preservation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p. 1387-1399, 2005.

SILVA, D. N. da; GOMES, J.A. **A fruticultura no estado do Espírito Santo**. Vitória: INCAPER, 2002.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C.A.; SILVEIRA, N. F. A.. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo. Livraria Valela. 1997. 295 p.

SILVA, Patricia T.; FIALHO, Eliane; LOPES, Maria Lúcia M.; VALENTE-MESQUITA, Vera Lúcia. Sucos de laranja industrializados e preparados sólidos para refrescos: estabilidade química e equivalente substancial. **Ciências e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 597-602, jul.-set. 2005.

SINGH, R. P. (1994). Scientific principles of shelf life evaluation. In: MARCHI, Renata; MONTEIRO, Magali; CARDELLO, Helena Maria A. B.. Avaliação da vida de prateleira de um isotônico natural de maracujá (*Passiflora edullis Sims. F. vicarpa Deg.*). **Brazilian Journal of Food Technology**, v.6, n.2, p.291-300, 2003.

SMELT, J.P.P.M., RIJKE, A.G.F.; HAYHURST, A. (1994). Possible mechanism of high-pressure inactivation of microorganisms. In: MANÃS, P; PAGÁN, R. A REVIEW: Microbial inactivation by new technologies of food preservation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p. 1387-1399, 2005.

SMELT, J.P.P. Recent advances in microbiology of high pressure processing. **Trends in Food Science & Technology**. v.9, n.4, p. 152-158, 1998.

SOLOMON, O.; SVANBERG, U.; SAHLSTRÖM, A. Effect of oxygen and fluorescent light on the quality of orange juice during storage at 8°C. (1985). In: PINTO, Mirella Teixeira. **Estudo da vida de prateleira do suco de laranja concentrado e congelado**. 2006. Dissertação (mestrado em alimentos e nutrição- Programa de pós-graduação em alimentos e nutrição, Universidade Estadual Paulista "Júlio De Mesquita Filho" Faculdade De Ciências Farmacêuticas), Campus De Araraquara.

SONOIKE, K., SETOYAMA, T., KUMA, Y.; KOBAYASHI, S. (1992). Effect of pressure and temperature on the death rate of *Lactobacillus casei* and *Escherichia coli*. In: MANÃS, P; PAGÁN, R. A REVIEW: Microbial inactivation by new technologies of food preservation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p. 1387-1399, 2005.

ROTHSCHILD, L.J. e MANCINELLI, R.L.. Life in extreme environments. **Nature**, v.: 409, p.: 1092-1101, 2001.

TALCOTT, Stephen T.; PERCIVAL, Suzan S.; PITTET-MOORE, Jennifer e CELORIA, Charity. Phytochemical composition and antioxidant stability of fortified yellow Passion Fruit (*Passiflora edullis*). **Journal of agricultural and food chemistry**, 2003, 51, 935-941.

TANNENBAUM, S. R.; ARCHER, V. R.; YOUNG, M. C. Vitamins and minerals.(1985). In: PINTO, Mirella Teixeira. **Estudo da vida de prateleira do suco de laranja concentrado e congelado**. 2006. Dissertação (mestrado em alimentos e nutrição- Programa de pós-graduação em alimentos e nutrição, Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” Faculdade De Ciências Farmacêuticas), Campus De Araraquara.

TAUSCHER, B. (1995). Pasteurization of food by hydrostatic high pressure: chemical aspects. In: BUTZ, P.; EDENHARDER, R.; GARCIA, Fernandes A.; FISTER, H.; MERKEL, C.; TAUSCHER, B.. Changes in functional properties of vegetables induced by high pressure treatment. **Food research international**, v. 35, p. 295-300, 2002.

TONELLO, C., KESENE, S., MUTEREL, C.; JOLIBERT, F. (1997). Effect of high hydrostatic pressure treatments on self life of different fruit products. In: POLYDERA, Angeliki C., NIKOLAUS, G. Stoforos & PETROS, S. Taoukis. The Effect of Storage on the Antioxidant Activity of Reconstituted Orange Juice Wich Had Been pasteurized by High Pressure or Heat. **Internation Journal of Food Science and Technology**, v. 39, p. 783-791, 2004.

TORRES, Antonio J.; VELAZQUEZ, Gonzalo. Comercial opportunities and Research Challenges in the High Pressure Processing of Foods. **Journal of food Engineering**, v. 67, p. 95-112, 2005.

WOUTERS, P.C., GLAASKER, E. and SMELT, J.P.P.M. Effects of high pressure on inactivation kinetics and events related to proton efflux in *Lactobacillus plantarum*. **Applied and Environment Microbiological**, v. 64, p. 509–514, 1998.

www.fresherunderpressure.com. In: TORRES, Antonio J.; VELAZQUEZ, Gonzalo. Comercial opportunities and Research Challenges in the High Pressure Processing of Foods. **Journal of food Engineering**. v. 67 p. 95-112, 2005.

www.todafruta.com.br. Acesso em: 20.agost.2006.

ZIMMERMAN, A.M. (1971). High pressure studies in cell biology. In: Palhano, F.L.S. **Influência da Pressão Hidrostática em *Sacharomyces cerevisiae*: correlação com os estresses físicos e químicos**. 2005. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2005.