

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

ALANA PEREIRA DE FREITAS

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SUCO DE ACEROLA ADICIONADO DE
EMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA (*Citrus sinensis*) E QUITOSANA**

Vitória de Santo Antão

2019

ALANA PEREIRA DE FREITAS

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SUCO DE ACEROLA ADICIONADO DE
EMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA (*Citrus sinensis*) E QUITOSANA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Graduação em Nutrição do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco em cumprimento a requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição, sob orientação da Professora Dr^a Roberta Albuquerque Bento e co-orientação da Doutoranda Dayane de Melo Barros.

Vitória de Santo Antão

2019

Catálogo na fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE - Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Fernanda Bernardo Ferreira, CRB4-2165

F866a Freitas, Alana Pereira de.

Avaliação da qualidade de suco de acerola adicionado de emulsão de óleo essencial de laranja (*citrus sinensis*) e Quitosana . Alana Pereira de Freitas. - Vitória de Santo Antão, 2019.
67 folhas.

Orientadora: Roberta Albuquerque Bento.

Coorientadora: Dayane de Melo Barros.

TCC (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Bacharelado em Nutrição, 2019.

Inclui referências.

1. Conservantes de Alimentos. 2. Suco de acerola. 3. Óleo Essencial. 4. Quitosana. I. Bento, Roberta Albuquerque (Orientadora). II. Barros, Dayane de Melo (Coorientadora). III. Título.

641.4 CDD (23. ed.)

BIBCAV/UFPE-348/2019

ALANA PEREIRA DE FREITAS

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SUCO DE ACEROLA ADICIONADO DE
EMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA (*citrus sinensis*) E QUITOSANA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Colegiado do Curso de Graduação em Nutrição do
Centro Acadêmico de Vitória da Universidade
Federal de Pernambuco em cumprimento a
requisito parcial para obtenção do grau de
Bacharel em Nutrição

Data: 18 de dezembro de 2019

Banca Examinadora

Prof^{ta}. Dr^a. Roberta de Albuquerque Bento

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Centro Acadêmico de Vitória (CAV)

Prof^{ta}. Dr^a. Erilane Castro

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Centro Acadêmico de Vitória (CAV)

Doutoranda Dayane de Melo Barros

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me permitir chegar até aqui, guiando os meus passos e me fortalecendo nos momentos difíceis.

Aos meus pais, Severina e Cícero, por todo apoio e incentivo, por não medirem esforços para que eu chegasse até aqui, apesar das dificuldades. Sem eles, não teria sido possível.

À minha irmã, Amanda, por todo apoio e incentivo durante a caminhada.

À minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª Roberta Bento, por ter me acolhido, pela paciência, por todos ensinamentos partilhados e por ser minha inspiração profissional e pessoal.

À minha co-orientadora, Dayane Barros, por ter aceitado o convite e pela sua brilhante contribuição.

Às minhas amigas da faculdade, por todos os momentos partilhados e por tornarem a graduação mais animada e prazerosa.

Aos técnicos Michelle e Silvio, por toda disponibilidade e apoio para realização deste trabalho.

Aos membros da banca, por terem aceitado o convite e pela contribuição deixada na leitura deste trabalho.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho, que torceram por mim e que de alguma forma estiveram e estão próximos a mim. Muitíssimo obrigada!

RESUMO

O interesse em alimentos naturais tem crescido e contribuído para o aumento do consumo de sucos de frutas. A alta suscetibilidade à deterioração microbiana dos sucos de frutas atrelado à demanda do mercado consumidor por produtos frescos e saudáveis tem despertado o interesse para o uso de conservantes naturais, como Óleos Essenciais (OE) e quitosana. Estes compostos apresentam potencial antimicrobiano frente a microrganismos deteriorantes e patogênicos em alimentos. No entanto, para que possam ser utilizados em sistemas de conservação com êxito é necessário que, além de suas atividades biológicas, eles preservem as características físico-químicas e sensoriais dos sucos. Neste contexto, objetivou-se avaliar a qualidade de suco de acerola adicionado de emulsão de OE de laranja (*Citrus sinensis*) e quitosana. A emulsão foi aplicada a uma concentração de 2 µl/mL. Para avaliar os efeitos da emulsão, foram realizadas análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais nos sucos logo após o processamento e após 7 dias de armazenamento. Para testes microbiológicos, os indicadores coliformes a 45°C e *Salmonella* spp. foram avaliados. Nas análises físico-químicas foram determinados os sólidos solúveis totais, pH, acidez titulável, açúcares totais e ácido ascórbico. Para análise sensorial, foram realizados teste de aceitação, teste pareado de diferença/preferência e de intenção de compra. Não foram detectados coliformes totais e fecais e *Salmonella* spp. nos sucos. Obteve-se uma redução da acidez e do teor de ácido ascórbico nos sucos contendo emulsão. A emulsão de OE e a quitosana proporcionaram uma redução da aceitação sensorial do suco de acerola. No entanto, após sete dias a aceitação aumentou, devido a sua ação na estabilidade do suco. Pode-se inferir que estes compostos tem potencial para serem aplicados em suco de frutas, no entanto combinações com outros métodos de preservação podem ser necessárias para diminuir a dose efetiva e, assim, minimizar os impactos negativos no odor e no paladar. Estudos adicionais são necessários a fim de reduzir o impacto das emulsões sob as características sensoriais do suco de acerola.

Palavras-chave: Suco de acerola. Óleo Essencial. Quitosana. Conservante natural.

ABSTRACT

Interest in natural foods has grown and contributed to the increased consumption of fruit juices. The high susceptibility to microbial deterioration of fruit juices coupled with consumer market demand for fresh and healthy products has sparked interest in the use of natural preservatives such as Essential Oils (OE) and Chitosan. These compounds have antimicrobial potential against spoilage and pathogenic microorganisms in foods. However, in order to be successfully used in conservation systems, it is necessary that, in addition to their biological activities, they preserve the physicochemical and sensory characteristics of juices. In this context, the objective of this study was to evaluate the quality of acerola juice added with orange OE (*Citrus sinensis*) and chitosan emulsion. The emulsion was applied at a concentration of 2 µl/mL. To evaluate the effects of the emulsion, microbiological, physicochemical and sensory analyzes were performed on the juices immediately after processing and after 7 days of storage. For microbiological tests, coliform indicators at 45 °C and *Salmonella* spp. were evaluated. In the physicochemical analyzes the total soluble solids, pH, titratable acidity, total sugars and ascorbic acid were determined. For sensory analysis, acceptance test, paired difference/preference test and purchase intention test were performed. No total and fecal coliforms and *Salmonella* spp. in the juices. A reduction in acidity and ascorbic acid content was obtained in emulsion-containing juices. The emulsion of EO and chitosan provided a reduction in the sensory acceptance of acerola juice. However, after seven days acceptance increased due to its action on juice stability. It can be inferred that these compounds have the potential to be applied to fruit juice, however combinations with other preservation methods may be necessary to decrease the effective dose and thus minimize negative impacts on odor and taste. Further studies are needed to reduce the impact of emulsions on the sensory characteristics of acerola juice.

Keywords: Acerola juice. Essential oil. Chitosan. Natural preservative.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma do processamento do suco de acerola.....	29
Figura 2 - Avaliação da aceitação global do suco de acerola controle e adicionado de emulsão imediatamente após o processamento (tempo 0).....	36
Figura 3 - Avaliação da aceitação global do suco de acerola controle e adicionado de emulsão no tempo 7 da vida de prateleira.	36
Figura 4 - Avaliação do sabor do suco de acerola controle e adicionado de emulsão imediatamente após o processamento (tempo 0).....	37
Figura 5 - Avaliação do sabor do suco de acerola controle e adicionado de emulsão no tempo 7 da vida de prateleira	37
Figura 6 - Avaliação do odor do suco de acerola controle e adicionado de emulsão imediatamente após o processamento (tempo 0).....	38
Figura 7 - Avaliação do odor do suco de acerola controle e adicionado de emulsão no tempo 7 da vida de prateleira	38
Figura 8 - Avaliação da aparência do suco de acerola controle e adicionado de emulsão imediatamente após o processamento (tempo 0).....	39
Figura 9 - Avaliação da aparência do suco de acerola controle e adicionado de emulsão no tempo 7 da vida de prateleira.....	39
Figura 10 - Avaliação da cor do suco de acerola controle e adicionado de emulsão imediatamente após o processamento (tempo 0).....	40
Figura 11 - Avaliação da cor do suco de acerola controle e adicionado de emulsão no tempo 7 da vida de prateleira	40
Figura 12 - Avaliação da percepção de diferença e preferência do suco de acerola com e sem emulsão imediatamente após o processamento (0 dia) e após 7 dias	41
Figura 13 - Teste de intenção de compra do suco de acerola sem e com adição de emulsão ..	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos para suco de acerola	18
Tabela 2 - Padrões Microbiológicos para Alimentos - Sucos, Refrescos, Refrigerantes e outras Bebidas não alcoólicas	20
Tabela 3 - Tratamento das amostras de suco de acerola	30
Tabela 4 - Parâmetros físico-químicos do suco de acerola controle (F1) e do suco de acerola adicionado de emulsão de óleo essencial de laranja (<i>Citrus sinensis</i>) e quitosana (F2) ao longo do armazenamento	34
Tabela 5 - Notas de aceitação do suco de acerola controle, sem adição de emulsão (F1) e do suco de acerola adicionado de emulsão de óleo essencial de laranja (<i>Citrus sinensis</i>) e quitosana (F2) ao longo do armazenamento	35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 JUSTIFICATIVA	14
4 REVISÃO DA LITERATURA	15
4.1 Produção de sucos de Frutas	15
4.1.1 Suco de Acerola	17
4.2 Contaminação em sucos de frutas	18
4.3 Métodos para conservação de sucos de frutas	21
4.4 Conservantes Naturais	23
4.4.1 Uso de óleos essenciais para conservação de sucos de frutas	23
4.4.2 Uso de quitosana para conservação de sucos de frutas	25
5 MATERIAL E MÉTODOS	28
5.1 Solubilização da quitosana	28
5.2 Emulsões de OE de laranja e quitosana	28
5.3 Elaboração do suco de acerola	28
5.4 Tratamentos	30
5.5 Análises Microbiológicas	30
5.6 Análises físico-químicas	30
5.6.1 Sólidos solúveis totais	30
5.6.2 pH	31
5.6.3 Acidez total	31
5.6.4 Açúcares Totais	31
5.6.5 Ácido Ascórbico	31
5.7 Análise Sensorial	31
5.8 Análises Estatísticas	32
6 RESULTADOS	33
6.1 Análises Microbiológicas	33
6.2 Análises físico-químicas	33
6.2.1 Sólidos Solúveis Totais	33
6.2.2 pH	33

6.2.3 Acidez Titulável.....	33
6.2.4 Açúcares Totais.....	33
6.2.5 Ácido ascórbico	34
6.3 Análise Sensorial.....	34
7 DISCUSSÃO	42
7.1 Análises microbiológicas	42
7.2 Análises físico-químicas	42
7.2.1 Sólidos Solúveis Totais (SST)	43
7.2.2 pH.....	44
7.2.3 Acidez Titulável.....	44
7.2.4 Açúcares Totais.....	45
7.2.5 Ácido Ascórbico	46
7.3 Análise Sensorial.....	477
8 CONCLUSÕES	49
REFERÊNCIAS	50
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)	61
APÊNDICE B – FICHA DE ANÁLISE SENSORIAL.....	63
ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	64

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado o terceiro maior produtor mundial de frutas, com cerca de 40 milhões de toneladas de frutas frescas colhidas no ano de 2017 em uma extensão de aproximadamente dois milhões de hectares, distribuídos por todas as regiões do país. A fruticultura brasileira possui grande potencial de exportação, seja por produção *in natura* ou industrial de sucos e néctares, o que evidencia a relevância do setor para a economia brasileira (CNA, 2017; FAO, 2019). Há uma grande variedade de produção de frutas no Brasil, uma vez que, que as lavouras estão distribuídas por todas as regiões do país. Dentre as inúmeras variabilidades produzidas, a acerola recebe notoriedade, não apenas devido ao seu elevado valor nutritivo, mas também pelo relevante potencial de aplicação industrial (EMBRAPA, 2012).

A acerola possui importantes propriedades nutricionais, com destaque para o elevado teor de vitamina C. Segundo a TACO (2011) a acerola possui dez vezes mais vitamina C quando comparada a laranja. Tratando-se de produção a nível regional, o Nordeste do Brasil é o maior produtor de acerola do país e Pernambuco é o estado que ocupa o primeiro lugar nesta categoria. Grande parte da produção é destinada ao processamento para produção de sucos e derivados (EMBRAPA, 2012; IBGE, 2017).

A produção de sucos prontos para o consumo destaca-se no âmbito da indústria de frutas no Brasil, possuindo uma ampla expansão no mercado nacional. Sucos de fruta prontos para o consumo são considerados bebidas refrescantes, capazes de saciar a sede ao mesmo tempo em que atendem a demanda por produtos naturais que agregam vantagens nutricionais, o que contribui para sua aceitação (CARMO *et al.*, 2014). Logo, o suco de frutas processado foi incorporado à rotina das pessoas que estão cada vez mais em busca de bebidas saudáveis, práticas e saborosas.

No entanto, estes alimentos possuem vida útil limitada, sendo susceptíveis à deterioração microbiana, resultando em uma necessidade de aplicação de tecnologias de conservação eficazes, as quais possam possibilitar o aumento do tempo de prateleira (CARMO *et al.*, 2014). Vale salientar que, estudos têm relatado a detecção de microrganismos patogênicos em sucos (CHENG *et al.*, 2003; ALONZO, 2013). Bactérias possuem a capacidade de sobreviver em condições ácidas, como aquelas encontradas em sucos de frutas tropicais (ALBASHAN, 2009). Estes microrganismos patógenos expõem os sucos de frutas a riscos de segurança microbiológica (TARIFA; LOZANO; BRUGNONI, 2015).

Para a obtenção de um maior tempo de conservação, geralmente os sucos industrializados são acrescidos de aditivos alimentares, em especial os conservantes. Contudo, essas substâncias podem trazer danos à população sobretudo, indivíduos alérgicos a aditivos químicos. A literatura relata que algumas dessas substâncias podem causar sérios problemas de saúde como câncer, desenvolvimento de alergias e hiperatividade, além de apresentar relação com o aumento da pressão arterial sanguínea devido aos conservantes a base de sódio (HONORATO *et al.*, 2013; RODRIGUES, 2017). Portanto, é de extrema importância o uso de métodos para conservação que não apresentem prejuízos ao consumidor, como o uso de óleos essenciais e quitosana.

Óleos Essenciais (OE) são compostos complexos naturais, de origem vegetal, voláteis, caracterizados por um forte odor e constituído por metabólitos secundários de plantas aromáticas. O uso de OE em alimentos vem sendo viabilizado devido às suas propriedades biológicas (antioxidante, antibacteriana, antifúngica e inseticida) atreladas ao fato de serem reconhecidos como Seguros (GRAS) nas doses aplicadas em matrizes alimentares (BAKKALI *et al.*, 2008; GHABRAIE *et al.*, 2016). No âmbito mundial, os óleos essenciais do gênero *citrus* destacam-se, estando entre os mais utilizados. Esta condição se dá principalmente por serem obtidos como subprodutos da indústria de sucos, como o OE de laranja (ARAÚJO, 2019), que vem sendo utilizado como conservante natural em sucos (ESPINA *et al.*, 2013, 2014; CHUECA *et al.*, 2015; KHANDPUR; GOGAT, 2016).

A quitosana é um heteropolímero natural constituído por unidades de β - (1-4) N-acetilglucosamina e β - (1-4) D-glucosamina. Sendo encontrada na parede celular de fungos e exoesqueletos de insetos e artrópodes, este polissacarídeo é obtido a partir da desacetilação da quitina, um oligossacarídeo natural (BARBOSA *et al.*, 2015). Em sucos de frutas, a quitosana pode ser utilizada na clarificação (TASTAN; BAYSAL, 2015, 2017; ABDELMALEK *et al.*, 2017; IRSHAD *et al.*, 2017), na redução da acidez (IMERI; KNORR, 1988; RWAN; WU, 1996), como antimicrobiano (MALINOWSKA-PAŃCZYK *et al.*, 2009; DIANA *et al.*, 2009; BARBOSA *et al.*, 2015; QIU; WANG, 2017)

Devido às propriedades hidrofóbicas dos óleos, há a necessidade de formar emulsões em água, melhorando assim sua homogeneidade e dispersão. Além disso, para que estes compostos naturais sejam aplicados com êxito é necessário que, além de suas atividades biológicas, eles apresentem características físico-química, microbiológica e sensoriais aceitáveis, que não interfiram nos aspectos de identidade e qualidade dos sucos. Uma forma de se avaliar a aceitação de um produto é pela análise sensorial (ESPINA, 2015).

À vista disso, são necessários estudos que avaliem tanto a aplicação e eficácia de antimicrobianos naturais em alimentos como a influência desses compostos na qualidade e características sensoriais do produto, levando em consideração à aceitação por parte dos consumidores.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a qualidade de suco de acerola adicionado de emulsão de óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis*) e quitosana.

2.2 Objetivos específicos

- Elaborar uma emulsão de óleo essencial de Laranja Doce (*Citrus sinensis*) e quitosana;
- Produzir suco *in natura* de acerola adicionado de emulsão óleo essencial de Laranja Doce (*Citrus sinensis*) e quitosana;
- Verificar a influência da adição de óleo essencial de Laranja Doce (*Citrus sinensis*) e quitosana em suco de acerola, sobre indicadores de qualidade físico-químicos, microbiológicos e atributos sensoriais.

3 JUSTIFICATIVA

O Brasil é considerado o maior produtor, consumidor e exportador mundial de acerola. Entre os principais estados brasileiros produtores de acerola, Pernambuco tem destaque, ocupando o primeiro lugar. A acerola é um fruto tropical de grande potencial econômico e nutricional, devido, principalmente, ao seu alto valor nutricional. Além disso, pode-se destacar, ainda, o seu fácil cultivo, o sabor e aroma agradáveis e a grande capacidade de aproveitamento industrial. Devido à natureza perecível do fruto, não se acredita no potencial de comercialização da fruta fresca no mercado, mas no seu processamento, quando os riscos de perdas são minimizados, como na produção de sucos.

O interesse em alimentos naturais tem crescido e contribuído para o aumento do consumo de sucos de frutas. A elevada demanda por sucos de frutas frescos e nutritivos com mínima (ou sem) adição de conservantes sintéticos, impõe à indústria de alimentos a necessidade de novas alternativas para preservar esses produtos sem negligenciar a saúde dos consumidores. Porém, apenas os processos tradicionais (tratamento térmico e adição de conservantes sintéticos) têm sido comumente aplicados para a preservação de sucos tropicais produzidos no Brasil, mas sabe-se que tais processos podem ser prejudiciais à saúde da população, demonstrando potencial toxicidade e associação com o surgimento alergias.

Diante disso, os compostos naturais apresentam-se como alternativa promissora de conservação natural, devido ao seu potencial antimicrobiano frente a microrganismos deteriorantes e patogênicos em alimentos. Contudo, para que novas tecnologias, como as de conservantes naturais, sejam aplicadas com êxito é necessário que, além de suas atividades biológicas, eles possuam aspectos físico-químicos e características sensoriais aceitáveis, repercutindo no produto final sabor, cor e aparência agradáveis. Além disso, para que um produto apresente capacidade promissora de comercialização é imprescindível que esteja em conformidade com a legislação vigente.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 Produção de sucos de Frutas

O Brasil é um dos maiores produtores de frutas do mundo. Com uma produção anual de 44 milhões de toneladas, ocupa o terceiro lugar no ranking mundial, ficando depois apenas da China e Índia. Do total produzido, 47% são consumidos *in natura* e 53% é destinada para o processamento (IBRAF, 2015). O processamento em produtos derivados, visa basicamente estender a vida útil de seu consumo, preservando a qualidade através da inibição de possíveis processos deteriorantes.

A industrialização de frutas surge como o caminho da agregação de valor. Tal valorização se dá por vários benefícios trazidos pelo processamento, que preserva e estende o prazo de validade, aumenta a digestibilidade, aumenta a disponibilidade de alguns nutrientes, melhora a palatabilidade e a textura, prepara alimentos prontos para o consumo, elimina microrganismos, inativa toxinas, remove partes não comestíveis, inibe fatores antinutricionais e cria novos tipos de alimentos (TEIXEIRA, 2007). Neste âmbito, os sucos são os derivados mais importantes das frutas, tanto para o mercado interno quanto para exportação a diversos países, sendo bem aceitos pelo seu sabor e propriedades nutritivas.

A industrialização de sucos no Brasil começou de maneira incipiente na década de 50, recebendo grande impulso e investimentos no início da década seguinte, quando fenômenos climáticos adversos nos Estados Unidos geraram demanda do suco de laranja brasileiro. A falta do produto no mercado possibilitou ao Brasil assumir um papel de liderança na produção, com destaque para os derivados da laranja (MONTEIRO, 2006). Na década de 80, especialmente na região nordeste, a fruticultura esteve presente no desenvolvimento agroindustrial do litoral com a produção de sucos de caju, laranja, goiaba e acerola (LACERDA; LACERDA, 2004). A produção de sucos prontos para beber no Brasil foi impulsionada a partir da década de 90, com o surgimento de diversas marcas comerciais no mercado nacional (LIMA et. al, 2000), que conquistaram espaço nas prateleiras dos supermercados e na mesa dos brasileiros.

O mercado de sucos procura conquistar a preferência dos consumidores, baseando-se, fundamentalmente, no aspecto da conservação das propriedades nutritivas das frutas (BNDES, 2006). O Brasil se destaca por ser o maior exportador mundial de sucos de frutas, com 15% de participação no comércio mundial do segmento (ABDI, 2009). De 2010 para 2017, o volume de produção cresceu 48% (ABIR, 2019).

A legislação brasileira define suco ou sumo de frutas como a bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, obtida da fruta madura e sã, ou parte do vegetal de origem, por processamento tecnológico adequado, submetida a tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo (BRASIL, 2009). O sabor do produto é resultado da interação entre as características de odor, gosto e sensações táteis, além do tipo de fruta, bem como de sua variedade, maturidade, condições climáticas, práticas de cultura e processamento, que influenciam em sua composição e, conseqüentemente, em suas características sensoriais (TEIXEIRA, 2009).

Uma pesquisa organizada pela *Produce Marketing Association* (PMA) constatou que o consumo de frutas pela população brasileira tem aumentado e se dá principalmente na forma de sucos (SNA, 2019). Entretanto, a elaboração manual de sucos a partir de frutas *in natura* tornou-se um inconveniente ao ritmo de vida acelerado da população (BERTO, 2003; SILVA *et al.*, 2005; PINHEIRO, 2006; CARDOSO *et al.*, 2015).

O hábito do consumo de sucos de frutas processados tem sido motivado por diversos fatores, como a melhora das condições econômicas da população brasileira, a praticidade oferecida pelos produtos, a substituição ao uso de bebidas carbonatadas, devido ao maior valor nutritivo dos sucos, pela preocupação com o consumo de alimentos mais saudáveis, além de maior durabilidade (FERREIRA *et. al*, 2014; CARDOSO *et. al*, 2015). Neste contexto, a ingestão de sucos industrializados no Brasil está em expansão: o consumo de sucos prontos para beber aumentou 36% no período de 2010 a 2017. Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e Bebidas não Alcoólicas, cada brasileiro chegou a consumir 5,31 litros no ano de 2017 (ABIR, 2019).

A qualidade dos sucos processados depende das propriedades físico-químicas (acidez, pH, sólidos solúveis, açúcares, cor, viscosidade e vitamina C) e das características microbiológicas e sensoriais. Para agradar o consumidor e serem considerados de boa qualidade, estes produtos devem apresentar atributos sensoriais e nutricionais semelhantes ao do produto *in natura*. A instrução normativa Nº 37, de 1º de outubro de 2018, do ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA), fixa os parâmetros analíticos e quesitos complementares aos padrões de identidade e qualidade de sucos de frutas.

Dado o exposto, os sucos de frutas prontos para o consumo têm ganhado grande destaque, sendo incorporado à rotina das pessoas por serem considerados bebidas refrescantes, capazes de saciar a sede, ao mesmo tempo que respondem ao apelo por produtos naturais e agregam vantagens nutricionais. No entanto, em decorrência do processamento insuficiente e/ou condições de armazenagem inadequadas, micro-organismos patogênicos podem

contaminar e se desenvolver em sucos de frutas, aumentando o risco de ocorrência de doenças de origem alimentar, tornando-os um risco à saúde dos consumidores (SILVA *et al.*, 2014). Dessa forma, soma-se a produção destes produtos a necessidade de desenvolvimento de métodos que possam conservá-los por um período de tempo maior, mantendo da melhor maneira suas características sensoriais e nutricionais, visto que esses alimentos são sujeitos a deterioração microbiana.

4.1.1 Suco de Acerola

As frutas tropicais exóticas são ideais para o crescente mercado de sucos devido à sua diversidade de aromas e sabores, além de seu valor nutricional. Neste grupo, há a acerola, *Malpighia glabra*, que é uma fruta nativa das Índias Ocidentais, mas também cultivada na América do Sul, Flórida e Texas (BARBOSA *et al.*, 2015). O Brasil é considerado o maior produtor, consumidor e exportador mundial de acerola. A área plantada de acerola é de aproximadamente 7.200 hectares, destacando-se a região Nordeste como a maior produtora, com área cultivada em torno de 3.100 hectares. A produção de acerola no Brasil chega a 150 mil toneladas por ano. O Nordeste participa com aproximadamente 64% desse total e Pernambuco é o principal estado produtor, com mais de 23% da produção nacional (EMBRAPA, 2012).

A acerola possui várias aplicações, podendo ser consumida *in natura*, na forma de polpas congeladas, licores, geleias, doces em calda e em pasta, sorvetes. Pode ainda ser consumida sob a forma de suco natural, ou como fonte enriquecedora de vitamina C quando associada ao suco de outras frutas (CHAVES *et al.*, 2004; EMBRAPA 2012). Pelo seu potencial como fonte natural de vitamina C (seu teor chega a ser dez vezes maior que o de laranja) e sua capacidade de aproveitamento industrial, a aceroleira gera o interesse dos fruticultores e passou a ter importância econômica em várias regiões do Brasil (MAIA *et al.*, 2007).

Apesar de sua ampla aceitação, não se acredita no potencial de comercialização da acerola fresca, mas sim no processamento e conservação de sua polpa e na produção do seu suco, pois a qualidade da fruta diminui rapidamente após a colheita (MAIA *et al.*, 2007). O suco de acerola se revela como uma boa fonte vitamina C, vitamina A, ferro e cálcio, sendo uma bebida consumida em todo mundo por pessoas de todas as fases da vida (BARBOSA *et al.*, 2015).

Os sucos tropicais possuem legislação específica e é definido como o produto obtido pela dissolução, em água potável, da polpa da fruta polposa de origem tropical, por meio de processo tecnológico adequado, não fermentado, de cor, aroma e sabor característicos da fruta, submetido a tratamento que assegure sua conservação e apresentação até o momento do consumo. O Suco

Tropical, deve conter um mínimo de 50% da respectiva polpa, ressalvado o caso de fruta com acidez alta ou conteúdo de polpa muito elevado ou sabor muito forte que, neste caso, o conteúdo de polpa não deve ser inferior a 35% e suas características físico-químicas e organolépticas devem ser as provenientes da fruta de sua origem, conforme parâmetros previstos nos padrões de identidade e qualidade específicos para cada suco de fruta (BRASIL, 2003).

A Instrução Normativa nº 37, de 1º de outubro de 2018 que determina os parâmetros analíticos de suco e de polpa de frutas, preconiza os padrões de identidade e qualidade do suco de acerola (Tabela 1).

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos para suco de acerola

Parâmetros	Mínimo
Sólidos solúveis em °Brix, a 20° C	5,5
pH	2,8
Acidez Total expressa em ácido cítrico (g/100g)	0,8
Açúcares Totais (g/100g)	4
Ácido ascórbico (mg/100g)	800

Fonte: BRASIL, 2018.

4.2 Contaminação em sucos de frutas

A contaminação de frutas por microrganismos pode acontecer durante o crescimento das plantas no campo, na colheita, no tratamento pós-colheita, ou ao longo do armazenamento e distribuição (BARTH *et al.*, 2009). Naturalmente, as frutas frescas possuem uma barreira protetora (casca) que age de forma eficaz na inibição da penetração da maior parte dos microrganismos. No entanto, tal proteção é eliminada durante as etapas de processamento para obtenção de produtos derivados, expondo assim a polpa do fruto a condições ambientais desfavoráveis, bem como a uma possível contaminação microbiana (BALLA; FARKAS, 2006). Desta forma, o suco atua como agente seletivo para micro-organismos ácido-tolerantes presentes na fruta ou nos equipamentos do processamento (BARBOSA, 2011).

Devido à sua natureza ácida, sucos de frutas outrora não eram considerados como alimentos de risco no que diz respeito a agentes patogênicos, acreditava-se que a acidez seria suficiente para evitar a proliferação de microrganismos. Contudo, devido aos surtos de doenças de origem alimentar associados a esses produtos a partir da década de 1990, é evidente a possível sobrevivência de micro-organismos como *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Shigella*

spp., *Campylobacter jejuni* e *Cryptosporidium* spp. em frutas e sucos de frutas, quando armazenados em temperatura ambiente e de refrigeração (SOUSA, 2017).

Segundo Sousa, 2017, os principais fatores que determinam a colonização de frutas e seus derivados por micro-organismos são: 1) fatores intrínsecos, que dependem da composição dos alimentos, como a atividade de água, pH, potencial redox, nutrientes, estruturas e agentes antimicrobianos; 2) tratamentos tecnológicos, que podem modificar a microbiota inicial; 3) fatores extrínsecos ou condições ambientais, como temperatura, umidade relativa e atmosfera; e 4) fatores implícitos, que dependem da microbiota em desenvolvimento, e do manejo das matérias-primas e do produto durante o processamento e armazenamento. Em sucos de frutas, devido ao elevado teor de água, o crescimento microbiano é favorecido (BARBOSA, 2011). Além disso, os valores de pH das frutas também são fatores de forte influência na microbiologia destes produtos.

Atualmente, sabe-se que a deterioração microbiana de frutas e produtos derivados ocorre principalmente devido à contaminação por fungos filamentosos (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Rhizopus*), leveduras (*Saccharomyces*, *Candida*, *Torulopsis*, *Hansenula*), bactérias lácticas e acéticas (*Acetobacter*, *Gluconobacter*), assim como bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. e *Alicyclobacillus* spp. (RAYBAUDI-MASSILIA *et al.*, 2009). O crescimento e o desenvolvimento dos micro-organismos deteriorantes comumente encontrados em sucos de frutas são favorecidos em temperaturas de 15 a 35 °C, ocasionando intensas alterações sensoriais, como aroma e sabor desagradáveis, devido à formação de ácido láctico, etanol, acetato, CO₂, diacetil e acetoína, provenientes do processo de fermentação de bactérias lácticas, além de sabor fermentado e produção de dióxido de carbono (CO₂) pelas leveduras (SOUSA, 2017).

Além dos micro-organismos deteriorantes comumente encontrados em sucos de frutas, espécies de bactérias patogênicas causadoras de gastroenterites, tais como *E. coli* O157:H7, *Listeria* spp. e *Salmonella* spp., podem contaminar estes produtos e permanecer viáveis por um longo período de tempo (≥ 30 dias) (RAYBAUDI-MASSILIA *et al.*, 2009). Inúmeros estudos têm relatado a detecção de micro-organismos patogênicos em sucos (CHENG *et al.*, 2003; ALONZO, 2013). Vários surtos de salmonelose e *Escherichia coli* enterohemorrágicos associados ao consumo de uma variedade de sucos não pasteurizados foram relatados nos últimos anos (PARÓQUIA 2009; RAYBAUDI-MASSILIA *et al.*, 2009; SOUZA; ALMEIDA; GUEDES, 2016).

Bactérias possuem a capacidade de sobreviver em condições ácidas, como aquelas encontradas em de sucos de frutas tropicais (ALBASHAN, 2009), sendo considerados patógenos de risco para segurança microbiológica de sucos de frutas (TARIFA; LOZANO; BRUGNONI, 2015). Portanto, mesmo em sucos com valores de pH desfavoráveis ao crescimento da maioria das bactérias patogênicas, contaminantes como *Salmonella* spp., *E. coli* e *Listeria* spp. pode sobreviver e causar doenças após a ingestão desses alimentos (FRIEDMAN *et al.*, 2004; KISK'OE ROLLER, 2005; MOSQUEDA-MELGAR *et al.*, 2007; PARISH, 2009; RAYBAUDI-MASSILIA *et al.*, 2009). Ainda, Mazzotta *et al.* (2001) verificaram que cepas ácido-adaptadas de *E. coli* O157:H7, *Salmonella enterica* e *L. monocytogenes* em sucos de maçã, laranja e uva (pH 3,5- 3,9), apresentaram aumentada resistência ao calor, um dos processos mais aplicados na indústria de alimentos para a conservação de sucos de fruta.

Garcia *et. al* (2012) em estudo com sucos de frutas tropicais, verificaram a presença de *Salmonella* spp. em todas as amostras analisadas, incluindo em sucos de acerola. Além disso, foram encontrados coliformes totais e fecais acima do permitido pela legislação, estando, portanto impróprias para o consumo. Por meio da RDC nº12, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2001) estabelece normas que definem os padrões microbiológicos adotados no Brasil para sucos de frutas, descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Padrões Microbiológicos para Alimentos - Sucos, Refrescos, Refrigerantes e outras Bebidas não alcoólicas

Grupos de Alimentos	Microrganismo	Tolerância para Amostra Indicativa	Tolerância para Amostra Representativa			
			n	c	m	M
Refrigerantes e outros compostos líquidos prontos para o consumo; refrescos, sucos e néctares adicionados ou não de conservadores, congelados ou não.	Coliformes a 35 °C/ 50 mL	Aus	5	0	Aus	-
Sucos e refrescos <i>in natura</i> , incluindo água de coco, caldo de cana, de açaí e similares, isolados ou em misturas.	Coliformes a 45 °C/mL	10 ²	5	3	10	10 ²
	<i>Salmonella</i> sp/25mL	Aus	5	0	Aus	-

Fonte: ANVISA, 2001.

Onde: n - número de unidades a serem coletadas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas aleatoriamente.

c - número máximo aceitável de unidades de amostras com contagem entre os limites de m e M.

m - limite que separa o lote do produto em lote com qualidade intermediária aceitável.

M - limite que separa o produto aceitável do inaceitável.

Aus - Ausência

4.3 Métodos para conservação de sucos de frutas

Sucos de frutas apresentam uma vida de prateleira limitada. Estes produtos são altamente suscetíveis à deterioração, uma vez que seus componentes (enzimas, ácidos orgânicos, hidratos de carbono, etc.) estão em contato com o ar e micro-organismos do ambiente durante o manuseio (ESPINA *et al.*, 2013). Por isso, necessitam de aplicação de tecnologias de conservação eficazes, que possibilitem a extensão da sua vida de prateleira (CARMO; DANTAS; RIBEIRO, 2014). Geralmente, os sucos são tratados pelo calor e pela ação de aditivos químicos da classe dos conservantes.

O calor é um dos principais métodos de conservação de sucos, mas a intensidade necessária para garantir a segurança alimentar e o aumento de vida de prateleira, provoca alterações indesejáveis nas propriedades nutricionais e sensoriais dos alimentos, como desnaturação de proteínas, escurecimento não enzimático ou perdas de vitaminas (ESPINA *et al.*, 2011; ESPINA, 2015). O tratamento térmico atua na inativação e destruição dos microrganismos patogênicos e toxinas, oferecendo ao consumidor um produto de melhor qualidade, sendo a pasteurização, o método comumente utilizado (MORAES, 2016). No entanto, estudos demonstram que o aquecimento moderado (40-60 °C) destrói parte, mas não todos os micro-organismos presentes no alimento, causando muitas vezes, apenas injúria subletal (ESPINA *et al.*, 2011). Sendo assim, a pasteurização por si só não é considerada um método eficaz para conservação de alimentos, sendo necessário o uso de outras tecnologias, como o uso de aditivos químicos, para manutenção da qualidade do alimento durante as etapas de armazenamento, distribuição e comercialização.

A incorporação de aditivos em alimentos tem por finalidade aumentar o tempo de conservação dos alimentos, bem como atribuir, modificar e realçar as características sensoriais, tais como cor, sabor, aroma e textura, com o intuito de prevenir alterações indesejáveis e intensificar a palatabilidade para o consumidor (SOUZA *et al.*, 2019). Os conservantes são substâncias usadas nos alimentos objetivando preservar suas características, eliminando a carga microbiológica ou inibindo seu crescimento. Devem ser utilizados sempre nos limites preconizados na legislação e no método de fabricação de produtos, podendo ser adicionados após um método físico de conservação (GAVA; SILVA; FRIAS, 2009).

Os conservantes mais utilizados em alimentos são os bacteriostáticos e fungistáticos, que atuam inibindo o crescimento dos micro-organismos, mantendo as características dos alimentos por um maior período de tempo. Para sucos de frutas, os mais utilizados e permitidos pela legislação brasileira são o ácido benzoico e seus sais de sódio, cálcio e potássio, com concentração máxima permitida de 0,1 g/100 mL; ácido sórbico e seus sais de sódio, potássio e cálcio, com concentração máxima permitida de 0,1 g/100 mL; e Dicarbonato dimetílico, com concentração máxima permitida de 0,025 g/100 mL (BRASIL, 2013). No entanto, estas substâncias podem trazer danos à população e para algumas em especial, como os indivíduos alérgicos a aditivos químicos.

Estudos relatam que algumas dessas substâncias podem causar sérios problemas de saúde como câncer, desenvolvimento de alergias e hiperatividade, além de ter relação com a elevação da pressão sanguínea pelos conservantes a base de sódio (HONORATO *et al.*, 2013; RODRIGUES, 2017). O uso de ácido benzoico, por exemplo, está relacionado com sintomas de asma, o que também se refere ao dióxido de enxofre e sulfito de potássio (SOUZA *et al.*, 2019). Pesquisas mostram a relação do ácido benzoico em sintomas asmáticos, pois, quando ingerido, forma o ácido hipúrico por meio da conjugação com glicina pelo fígado (PIMENTA, 2003; GAVA; SILVA; FRIAS, 2009; AUN *et al.*, 2011).

Ademais, estas substâncias podem comprometer o desenvolvimento de crianças. McCann *et al.* (2007) em estudo dos efeitos de corantes e do benzoato de sódio em crianças de 3, 8 e 9 anos de idade, evidenciaram que aditivos alimentares intensificam o comportamento hiperativo (falta de atenção, impulsividade e hiperatividade) em crianças. Polônio e Peres (2009) também relataram uma forte relação entre corantes e conservantes na propensão de transtorno de déficit de atenção com hiperatividade. Portanto, é de extrema importância o uso de métodos para conservação que não apresentem prejuízos ao consumidor.

Neste cenário, surge uma nova discussão sobre opções inovadoras e emergentes para o alcance da segurança microbiológica dos alimentos, a citar o uso de embalagens ativas, antimicrobianos naturais (óleos essenciais, quitosana), campo elétrico pulsado, radiação ultravioleta e altas pressões (HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012; MOHAMED; EISSA, 2012; MOSQUEDA-MELGAR; RAYBAUDI-MASSILIA; MARTÍN-BELLOSO, 2012; PATRIGNANI *et al.*, 2013; BARBOSA *et al.*, 2015). Estas tecnologias, consideradas como não térmicas, estão sendo pesquisadas objetivando-se avaliar o seu potencial como um processo alternativo ou complementar aos métodos tradicionais de preservação dos alimentos

(LADO; YOUSEF, 2002; MOSQUEDA-MELGAR; RAYBAUDIMASSILIA; MARTÍN-BELLOSO, 2008; ESPINA *et al.*, 2013).

4.4 Conservantes Naturais

Diante das desvantagens e consequências do uso dos métodos tradicionais na conservação de sucos de frutas prontos para o consumo, há uma busca por tecnologias alternativas que possibilitem preservar suas características, sem, no entanto, prejudicar a saúde do consumidor. A crescente preocupação dos consumidores com a possível toxicidade dos conservantes químicos, além das alterações causadas pelo uso de altas temperaturas, estão despertado interesse em produtos naturais (ESPINA, 2015). Assim sendo, o uso de substâncias ou compostos antimicrobianos naturais para impedir a deterioração microbiológica dos sucos, garantindo segurança e mantendo as características de qualidade, aumentou nos últimos anos (ESPINA *et al.*, 2014; KAPOOR *et al.*, 2014; LEITE *et al.*, 2016; RAYBAUDI-MASSILIA *et al.*, 2009).

4.4.1 *Uso de óleos essenciais para conservação de sucos de frutas*

Óleos Essenciais (OE) são compostos voláteis, naturais e complexos, caracterizados por um forte odor e por fazerem parte de plantas aromáticas como metabólitos secundários. É um produto obtido a partir de matéria-prima natural de origem vegetal por destilação a vapor, processos mecânicos a partir do epicarpo de frutas cítricas ou destilação a seco, após a separação da fase aquosa, se houver, por processos físicos e apresentam-se líquidos e límpidos, lipossolúveis e solúveis em solventes orgânicos, com densidade geralmente menor que a da água (SOUZA; ALMEIDA; GUEDES, 2016; SOUZA, 2017). Os OEs são conhecidos por sua atividade antimicrobiana, uso seguro e aprovação pelo USFDA para uso em alimentos e bebidas (BURT, 2004; USFDA, 2015). O uso desses compostos como conservantes traz benefícios diferenciados, como facilidade de uso, lucratividade econômica por não exigir máquinas ou medidas especiais de manutenção e transporte, alta compatibilidade com a produção de alimentos e redução de desperdício.

A demanda de compostos antimicrobianos naturais pode ser alcançada com o uso de OE (BASSOLÉ; JULIANI, 2012; CALO *et al.*, 2015; PERRICONE *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2016). Os OE têm sido amplamente descritos como tendo atividades antimicrobianas contra vários microrganismos deteriorantes e patógenos transmitidos por alimentos em diferentes tipos de alimentos, embora essas atividades tenham variado com o tipo de matriz alimentar analisada

(BURT, 2004; GOÑI *et al.*, 2009; LÓPEZ *et al.*, 2005; MANSO *et al.*, 2015; MITH *et al.*, 2014; PERRICONE *et al.*, 2015). Acredita-se que o possível mecanismo de ação seja pela presença em sua composição de compostos fenólicos, que interagem com as proteínas das membranas celulares microbianas por meio de ligações de hidrogênio e interações iônicas ou hidrofóbicas causando uma deformação estrutural e funcional. Outro mecanismo pode ser evidenciado pelo aumento da permeabilidade da membrana celular e mitocondrial ocasionando a perda de constituintes vitais, como macromoléculas (glicídeos, lipídeos e proteínas) e micronutrientes, e consequentemente, a viabilidade celular (TURINA *et al.*, 2006; SOUSA *et al.*, 2015).

Entre a grande variedade de OE, os de frutas cítricas, como o de Laranja Doce (*Citrus sinensis*) e os seus principais componentes tiveram aceitação no setor de alimentos, como os que foram reconhecidos como seguros de saúde (GRAS) pela Food and Drug Administration (2005) e muitos alimentos toleram sua presença (FISHER; PHILLIPS, 2008). Os OE cítricos são extraídos da casca de frutas frescas usando um sistema de extração a frio. Com esse processo, os resíduos da indústria de suco de laranja são reciclados, maximizando o uso dos recursos existentes e minimizando os efeitos adversos dos subprodutos no meio ambiente. Assim, os produtores de sucos e derivados de frutas oferecem produtos naturais de OE padronizados para diferentes finalidades: aromas para perfumes, conservantes em produtos farmacêuticos ou de maquiagem ou conservantes e aditivos alimentares (ESPINA *et al.*, 2011).

O efeito antimicrobiano do óleo essencial de laranja é atribuído ao seu principal constituinte, limoneno. Espina *et al.* (2013) avaliando a atividade bacteriana do limoneno, verificou que a inativação final alcançada por este composto foi consideravelmente maior em condições ácidas. A resistência bacteriana aos OE e seus componentes diminui com a diminuição dos valores de pH devido ao aumento da hidrofobicidade da OE a pH baixo. Diante disso, um aspecto importante a considerar é o pH do meio de tratamento (ou matriz alimentar).

Na aplicação em sucos de frutas, os estudos revelam que os OE e seus constituintes são alternativas promissoras para alcançar a segurança microbiana em sucos de maçã, pera, melão, cenoura, laranja, melancia, abacaxi, tomate, morango e damasco (SOUZA *et al.*, 2016). Contudo, não há investigações sobre o uso de OE ou seus constituintes e seus impactos em sucos produzidos a partir de acerola. Para o sucesso da aplicação em sucos, é fundamental considerar o impacto que podem causar sobre os aspectos gerais de qualidade dos produtos, já que podem promover características desagradáveis, com implicações no sabor e odor dos produtos, impactando diretamente na sua aceitação (ESPINA *et al.*, 2014). Estes efeitos organolépticos indesejáveis podem ser superados pela seleção cuidadosa do óleo essencial de

acordo com o tipo de alimento. Visto isso, os sucos de frutas são apresentados como a matriz alimentar ideal para oferecer novas propostas de processos de conservação usando OE cítricos, tanto pela aparente compatibilidade sensorial entre este tipo de bebida e os compostos dos óleos, quanto pela necessidade de melhorar os processos de pasteurização de sucos (ESPINA, 2015).

A incorporação direta de óleos essenciais em alimentos, ainda, encontra limitações tecnológicas relacionadas com a natureza hidrofóbica, reativa e instável das moléculas bioativas que constituem o OE, pois dificulta sua dispersão na formulação dos alimentos, em especial nos sucos, formados predominantemente por água (DONSÍ *et al.*, 2011). Por isso, como alternativa, surge a necessidade de utilizar os OE's na forma de emulsão, ou seja, dessas substâncias serem emulsionadas em água antes de adicionados à bebida. Possibilitando assim, uma maior dispersão e homogeneidade.

4.4.2 Uso de quitosana para conservação de sucos de frutas

A quitosana é considerada o biopolímero mais amplamente distribuído, com propriedades de não toxicidade, biodegradabilidade e biocompatibilidade e tem sido extensivamente aplicada na indústria de alimentos como um agente antimicrobiano e antioxidante (KHAN *et al.* 2016). A quitosana é obtida a partir da desacetilação a altas temperaturas da quitina, um oligossacarídeo natural que é o principal componente da parede celular de fungos e exoesqueletos de insetos e artrópodes (BARBOSA *et al.*, 2015). É amplamente distribuído na natureza, sendo o material orgânico mais abundante após a celulose. A atividade antimicrobiana da quitosana tem sido demonstrada contra bactérias, leveduras e fungos, com amplo espectro de atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas com baixa toxicidade em células de mamíferos (MARTÍN-DIANA *et al.*, 2009).

Este polissacarídeo apresenta várias características que o torna apto para ser aplicado em várias áreas, especialmente em alimentos. Suas principais propriedades são: bioatividade, biodegradabilidade, biocompatibilidade, atoxidade, permeabilidade seletiva, ação polieletrólítica, atividade antimicrobiana, habilidade em formar gel e filme, habilidade de quelação e capacidade adsortiva (BARBOSA, 2011). Essas propriedades atraem pesquisas para o uso da quitosana como conservante natural (RAYBAUDI-MASSILIA, 2009).

A quitosana apresenta diferentes efeitos inibitórios contra fungos, bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Knowles e Roller (2001) relataram Concentrações Inibitórias

Mínimas (CIM) para específicos organismos alvos variam de 0,018 mg/mL a 10 mg/mL. Para *Salmonella typhimurium*, o valor de CIM é de 2 mg/mL (BARBOSA, 2015).

A atividade antimicrobiana da quitosana é influenciada por fatores intrínsecos e extrínsecos, sendo alguns deles: pH, grau de desacetilação, peso molecular, espécie microbiana, temperatura e componentes da matriz alimentar (BARBOSA, 2015). O mecanismo dessa propriedade não foi totalmente elucidado, no entanto algumas hipóteses têm sido relatadas, como: inibição do RNAm, da síntese proteica, quelação de metais, elementos do esporo e nutrientes essenciais e ativação de diversos processos de defesa no tecido hospedeiro, se ligar à água e inibir várias enzimas (DEVLIEGHERE *et al.*, 2004).

Em relação à composição nutricional da matriz alimentar em que a quitosana é aplicada, alguns nutrientes podem alterar sua atividade antimicrobiana (BARBOSA, 2015). Altas concentrações de amido (30% w/v) inibiram a atividade antimicrobiana da quitosana. Dependendo de sua carga, as proteínas também influenciam esta atividade. Se estiver carregada negativamente irá interagir com a quitosana neutralizando a maioria das cargas positivas, impedindo-a de atuar na superfície celular, reduzindo a atividade antimicrobiana. O NaCl interfere nas forças eletrostáticas entre a quitosana e a célula antimicrobiana (DEVLIEGHERE *et al.*, 2004).

Estudos relatam o potencial antimicrobiano da quitosana em sucos de frutas (DIANA *et al.*, 2009; MALINOWSKA-PAŃCZYK *et al.*, 2009; BARBOSA *et al.*, 2015; LEE, KHAN, OH, 2018). Estudando a influência da quitosana na extensão da vida de prateleira do suco de acerola, Diana *et al.* (2009) observaram que sua presença estendeu a qualidade do suco significativamente, reduzindo o escurecimento enzimático e não enzimático, e controlando a deterioração microbiana durante o armazenamento. Rhoades; Rolle (2000) e Kisko *et al.* (2005), estudando a aplicação de quitosana em suco de maçã verificaram que o composto inibiu o crescimento de leveduras em até treze dias de armazenamento e retardou a contagem de bactérias ácido lácticas.

Embora o uso de antimicrobianos naturais em sucos mostre uma tendência ascendente, alguns pesquisadores afirmaram que altas concentrações de OE são necessárias para alcançar os efeitos antimicrobianos desejados quando essas substâncias são o único obstáculo ao controle do crescimento microbiano, implicando características sensoriais provavelmente indesejáveis (SOUZA *et al.*, 2016).

Para um melhor resultado, o uso simultâneo de tecnologias emergentes para manutenção da segurança e da qualidade dos alimentos tem sido recomendado. A segurança microbiológica e a estabilidade da maioria dos alimentos, bem como a qualidade nutricional e sensorial, podem ser alcançadas pela aplicação combinada de métodos de conservação, cientificamente baseados na teoria das barreiras (LEISTNER, 1992). Essa estratégia propõe o uso de vários métodos de conservação aplicados simultaneamente e/ou sucessivamente, a fim de reduzir a intensidade de cada um deles, mantendo ou melhorando o efeito conservador alcançado. Como resultado, seria idealmente possível garantir a segurança dos produtos tratados com um prejuízo mínimo de suas propriedades organolépticas e nutricionais (ESPINA, 2015).

Sabe-se que para aplicação de OE em sucos, é fundamental se atentar para o impacto deste composto sobre as características sensoriais dos produtos durante o armazenamento, visto que a concentração do OE necessária para o estabelecimento da eficácia antimicrobiana pode resultar em características organolépticas desagradáveis ao consumo (GUTIERREZ; BARRY-RYAN; BOURKE, 2009). Diante disso, o uso de OE associado a outros métodos na inibição do crescimento microbiano em alimentos tem sido objeto de investigação e aperfeiçoamento, visto que se mostram como alternativa para prolongar a vida de prateleira e proporcionar ao consumidor alternativas mais saudáveis sem implicações sensoriais dado a possibilidade de uso de menores concentrações de óleo essencial (SOUZA *et al.*, 2016).

Nesta perspectiva, atualmente tem-se estudado a associação de óleos essenciais e quitosana para prolongar e melhorar a eficácia de suas propriedades antimicrobiana e antifúngica. Vários estudos mostram o efeito do uso combinado de antimicrobianos naturais em alimentos, especialmente em frutas (GUERRA *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2015; BARRETO *et al.*, 2016; FEYZIOGLU, TORNUK, 2016; GUERRA *et al.*, 2016; SOTELO-BOYÁS *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2018). No entanto, o efeito sobre os aspectos de qualidade da aplicação de quitosana e óleo essencial em sucos de frutas ainda não foram relatados.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nos Laboratórios de Bromatologia, Microbiologia dos Alimentos e Técnica Dietética da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória (UFPE – CAV).

5.1 Solubilização da quitosana

Quitosana comercial de crustáceo da empresa Sigma-Aldrich® (Darmstadt, Alemanha) foi utilizada nesse estudo. A solução de quitosana foi preparada em ácido acético 1% (v/v) a uma concentração de 0,5%, e mantida sob agitação durante 24h em temperatura ambiente (BENTO, 2008; BARBOSA, 2011).

5.2 Emulsões de OE de laranja e quitosana

O OE de Laranja Doce (*Citrus sinensis*), extraído por prensagem a frio das cascas, foi obtido da empresa Laszlo Aromatherapy Ltd. (Belo Horizonte, Brasil). As emulsões foram obtidas pelo método de inversão de fase, usando Tween 80 como agente emulsificante. Foi misturado 71% de água, 10% de óleo essencial de Laranja Doce (*Citrus sinensis*), 10% de solução de quitosana (1% em ácido acético), 6% de Tween 80 e 3% de etanol. As emulsões foram adicionadas aos sucos com pipeta automática na concentração de 2 µl/mL (ESPINA *et al.*, 2014). A concentração foi escolhida diante dos valores obtidos na determinação da CIM e CBM, conforme estudos anteriores (ESPINA *et al.*, 2014; CHUECA *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2016).

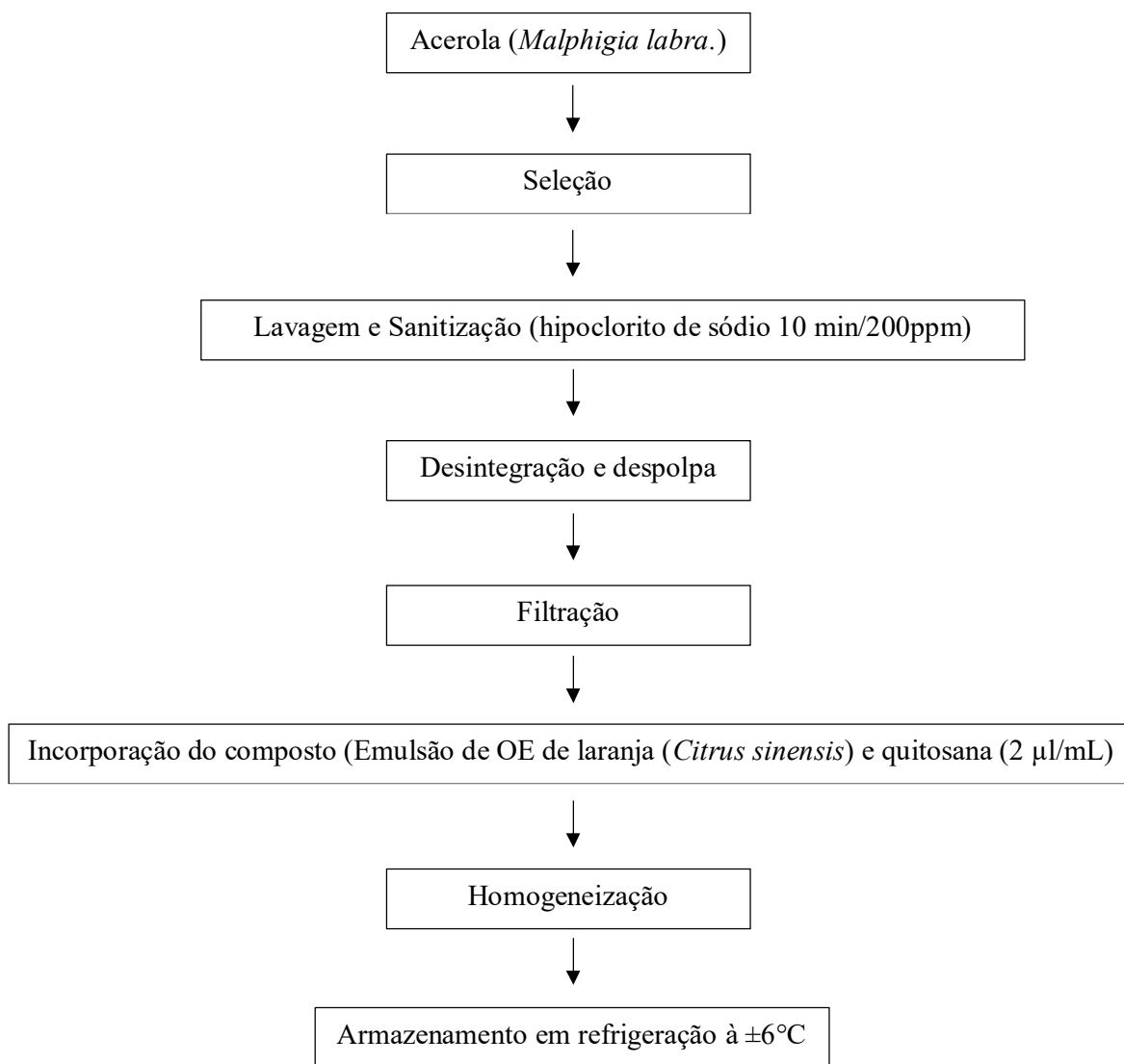
5.3 Elaboração do suco de acerola

As frutas maduras foram adquiridas na feira livre de Vitória de Santo Antão – PE e selecionadas de acordo com tamanho, forma, aparência e ausência de danos mecânicos ou sinais visíveis de injúria.

Os sucos foram preparados em conformidade com o regulamento técnico para sucos tropicais seguindo os Padrões de Identidade e Qualidade (BRASIL, 2003). Para elaboração do suco de acerola, os frutos foram imersos durante 10 min em uma solução de hipoclorito de sódio, na diluição de 200 ppm para a desinfecção da superfície e depois foram enxagues em

água corrente (ANVISA, 2004). Foram utilizadas acerolas em uma concentração de 60% (m/v), homogeneizadas em liquidificador e filtradas utilizando peneira doméstica. Posteriormente foi adicionado a emulsão de óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis*) e quitosana, seguindo para o armazenamento em garrafas de vidro previamente esterilizadas em autoclave (121 °C, 15 min) sob refrigeração até o momento das análises (Figura 1).

Figura 1 - Fluxograma do processamento do suco de acerola



Fonte: FREITAS, A. P., 2019.

5.4 Tratamentos

As análises foram realizadas no suco logo após a produção, e sob refrigeração no 7º dia de processamento, de acordo com Barbosa (2015), conduzidos em triplicata.

Foram analisadas a amostra de suco de acerola com emulsão e controle (sem adição dos compostos). As amostras, códigos e concentrações estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Tratamento das amostras de suco de acerola

Código da amostra	Tratamento
F1	0 mL/L de emulsão de óleo essencial de laranja e quitosana
F2	2 mL/L de emulsão de óleo essencial de laranja e quitosana

Fonte: FREITAS, A. P., 2019.

5.5 Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com a Instrução Normativa IN nº62/2003 do MAPA (BRASIL, 2003), para os seguintes indicadores microbiológicos: coliformes a 45°C e *Salmonella* spp. Os resultados de coliformes totais e fecais foram expressos em NMP/ml e a análise de *Salmonella* expressa em presença ou ausência.

5.6 Análises físico-químicas

Os parâmetros foram selecionados de acordo com padrão físico-químico brasileiro para suco de acerola (BRASIL, 2018).

5.6.1 Sólidos solúveis totais

Foram determinados por meio da leitura em refratômetro de bancada (modelo RTA-100, Instrutherm, São Paulo, Brasil), com os resultados expressos em °Brix (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

5.6.2 Ph

Os valores de pH de 30 mL das amostras foram determinados a temperatura ambiente usando um pHmetro de bancada (modelo PHS3BW, BEL Engineering, São Paulo, Brasil) (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

5.6.3 Acidez total

A acidez total titulável foi determinada por titulometria utilizando NaOH 0,1 N na presença de fenolftaleína como indicador e os resultados foram expressos em ácido cítrico em gramas por 100 gramas (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

5.6.4 Açúcares Totais

Os açúcares totais foram determinados pelo método fenol sulfúrico, de acordo com descrito por Demiate et al. (2002).

5.6.5 Ácido Ascórbico

A determinação de vitamina C foi realizada utilizando o método titulométrico a partir da oxidação do ácido ascórbico pelo iodato de potássio, preconizado pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008).

5.7 Análise Sensorial

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFPE/CAV sob o número de protocolo 19965819.6.0000.9430. As análises sensoriais dos sucos foram realizadas ao longo da vida de prateleira: imediatamente após a elaboração (tempo 0) e depois de 7 dias de armazenamento (tempo 7), período estabelecido de acordo com Barbosa (2011).

Os sucos tratados foram analisados através do teste de aceitação, onde foi utilizado um painel de 100 provadores não treinados (18 a 60 anos de idade), alunos, professores e funcionários da UFPE-CAV, selecionados com base nos hábitos e interesse em consumir suco de acerola. Os participantes avaliaram os atributos aparência, odor, sabor e aceitação global, utilizando escala hedônica de nove pontos (1 = desgostei muitíssimo; 2= desgostei muito; 3= desgostei regularmente; 4= desgostei ligeiramente; 5= nem gostei/nem desgostei; 6= Gostei ligeiramente; 7= Gostei regularmente; 8= Gostei muito; 9 = gostei muitíssimo) (STONE; BLEIBAUM; THOMAS, 2012).

Nas duas análises, cada participante recebeu duas amostras: uma do suco contendo emulsão de óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis*) e quitosana e o suco controle. As amostras foram servidas simultaneamente e de forma aleatória em copos plásticos de cor branca codificados com números aleatórios de três dígitos. Juntamente com as amostras foram oferecidos aos participantes bolacha e água e estes foram orientados a fazer uso dos mesmo entre uma amostra e outra, para remoção do sabor residual.

Foi aplicado também teste pareado de diferença/preferência (STONE; BLEIBAUM; THOMAS, 2012), sendo avaliada a preferência global do provador em relação ao suco de acerola controle e o adicionado de emulsão de óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis*) e quitosana. Por fim, foi aplicado teste de intenção de compra, utilizando-se escala de 5 pontos (1 = certamente não compraria; 2= possivelmente não compraria; 3= talvez comprasse/talvez não comprasse; 4= possivelmente compraria; 5 = certamente compraria) (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999). Os provadores realizaram as análises em cabines individuais com temperatura e iluminação adequadas, ausência de sons ou ruídos e livre de odores estranhos.

5.8 Análises Estatísticas

Os ensaios foram realizados em triplicata, sendo os resultados expressos como médias dos ensaios. O software GraphPad Prism 7.00 (OSB Software, São Paulo, Brasil) foi utilizado para a execução das análises estatísticas dos dados e criação dos gráficos.

6 RESULTADOS

6.1 Análises Microbiológicas

Os valores de coliformes totais (coliformes a 35°C) e coliformes fecais (Coliformes a 45°C) foram inferiores a 3 NMP/ml. Não foi detectada a presença de *Salmonella* spp nas amostras avaliadas ao longo do armazenamento.

6.2 Análises físico-químicas

6.2.1 Sólidos Solúveis Totais

Os valores de Sólidos Solúveis Totais (SST) variaram de 7,1 a 7,3°Brix (Tabela 4). A amostra controle (F1) apresentou um valor maior de SST que a adicionada de emulsão de OE de *Citrus sinensis* e quitosana.

6.2.2 pH

Os valores de pH variaram de 2,76 a 2,83 (Tabela 4). Houve um pequeno aumento do pH da amostra com a adição do composto em relação a controle. Ao longo do armazenamento houve uma redução no pH da amostra controle, já na amostra com emulsão não houve alteração deste parâmetro.

6.2.3 Acidez Titulável

Houve uma redução significativa da acidez em todas as amostras ao longo do armazenamento. A adição da emulsão não afetou a acidez do suco, em relação ao suco controle. No entanto, após sete dias de armazenamento, a amostra contendo OE e quitosana apresentou uma redução maior da acidez quando comparada com a amostra controle (Tabela 4).

6.2.4 Açúcares Totais

Todas as amostras mostraram um aumento no teor de açúcares totais ao longo do armazenamento, variando de 2,04 a 2,41 (Tabela 4). No tempo 0, o valor de açúcares totais da amostra controle foi um pouco maior do que o da F2.

6.2.5 Ácido ascórbico

O teor de vitamina C da amostra controle sempre se mostrou menor que o da adicionada de emulsão (Tabela 4). Houve redução no teor de ácido ascórbico nas duas amostras analisadas após os sete dias de armazenamento.

Tabela 4 - Parâmetros físico-químicos do suco de acerola controle (F1) e do suco de acerola adicionado de emulsão de óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis*) e quitosana (F2) ao longo do armazenamento

Ensaio	Tempo (Dias)	Tratamento			
		F1		F2	
		MÉDIA	DP	MÉDIA	DP
SST (°Brix)	0	7,3	±0,49	7,1	±0,55
	7	7,2	±0,05	7,1	±0,00
pH	0	2,81	±0,005	2,82	±0,005
	7	2,76	±0,01	2,82	±0,01
Acidez (%)	0	2,17	±0,005	2,18	±0,01
	7	0,83	±0,01	0,76	±0,005
Açúcares T. g/100ml	0	2,08	±0,015	2,04	±0,05
	7	2,41	±0,02	2,44	±0,20
Vit C mg/100g	0	1000	±50,00	1133	±28,08
	7	900	±0,00	1000	±0,00

Fonte: FREITAS, A. P., 2019.

6.3 Análise Sensorial

A adição da emulsão de óleo essencial de laranja e quitosana afetou significativamente a aceitação sensorial do suco de acerola, quando comparada com a amostra controle (Tabela 5). No entanto, o suco ainda foi considerado aceitável, mesmo ao final do tempo de armazenamento com as notas sensoriais variando de 6,42 “gostei ligeiramente” e 7,95 “gostei regularmente”.

A aceitação global, no tempo 0 evidenciou uma redução significativa da aceitação sensorial, quando comparado com e sem emulsão, com atributos “gostei regularmente” para “gostei ligeiramente” respectivamente (Figura 2). Ao longo do armazenamento, por sua vez, a aceitação global do suco controle apresentou uma leve diminuição, enquanto a da amostra adicionada de emulsão aumentou de “gostei ligeiramente” para “gostei regularmente” (Figura 3).

Os atributos sabor e odor foram os mais afetados com a adição da emulsão, sendo estas as menores notas, tanto imediatamente após o processamento, quanto sete dias depois. (Tabela 5). Ao longo do armazenamento houve uma redução das notas nestes atributos em todas as amostras (Figuras 4, 5, 6 e 7). Contudo, o suco adicionado de óleo essencial e quitosana apresentou uma diminuição menor.

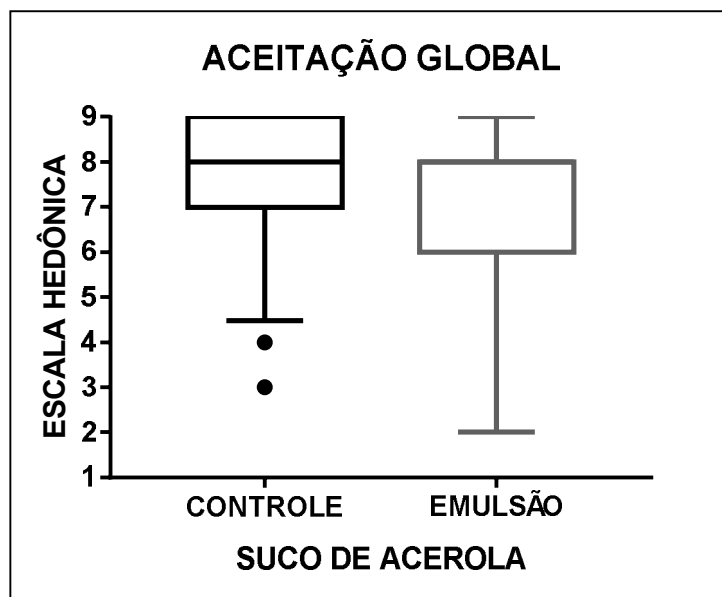
Nos atributos aparência e cor, houve um aumento das notas na amostra F1 no tempo 7 e uma diminuição pequena na amostra F2 (Figuras 8, 9, 10 e 11). No entanto, estas características foram as menos afetadas com a adição da emulsão, quando comparadas com a controle.

Tabela 5 - Notas de aceitação do suco de acerola controle, sem adição de emulsão (F1) e do suco de acerola adicionado de emulsão de óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis*) e quitosana (F2) ao longo do armazenamento

Atributos Sensoriais	Tempo (Dias)	Tratamento			
		F1		F2	
		MÉDIA	DP	MÉDIA	DP
Aparência	0	7,91	±1,50	7,79	±1,49
	7	8,20	±0,95	7,78	±1,56
Cor	0	8,07	±1,47	7,95	±1,52
	7	8,24	±0,98	7,85	±1,41
Odor	0	7,87	±1,59	7,01	±2,06
	7	7,78	±1,43	6,82	±1,95
Sabor	0	7,76	±1,64	6,51	±2,22
	7	7,47	±1,66	6,42	±2,23
Aceitação	0	7,85	±1,48	6,83	±2,10
Global	7	7,68	±1,60	7,13	±1,90

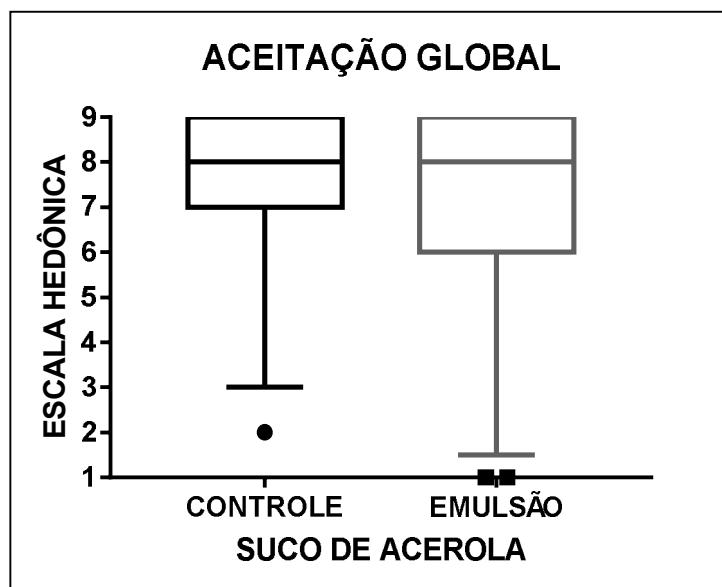
Fonte: FREITAS, A. P., 2019.

Figura 2 - Avaliação da aceitação global do suco de acerola controle e adicionado de emulsão imediatamente após o processamento (tempo 0)



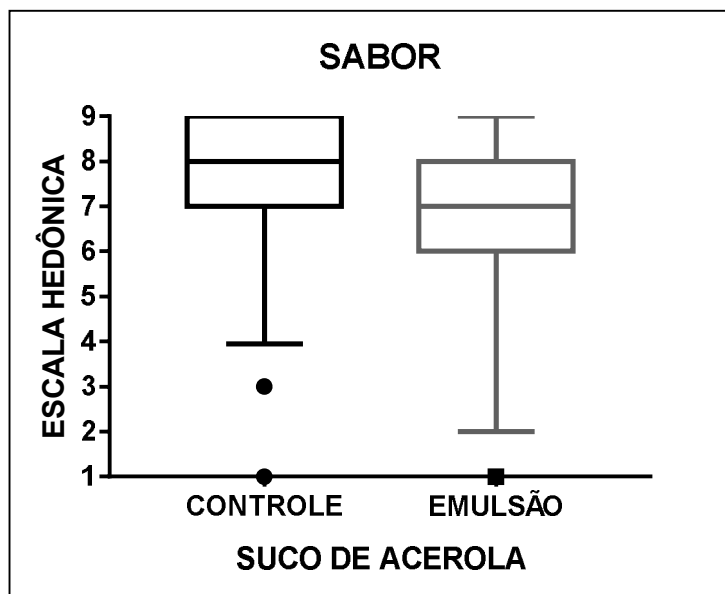
Fonte: FREITAS, A. P., 2019.

Figura 3 - Avaliação da aceitação global do suco de acerola controle e adicionado de emulsão no tempo 7 da vida de prateleira.



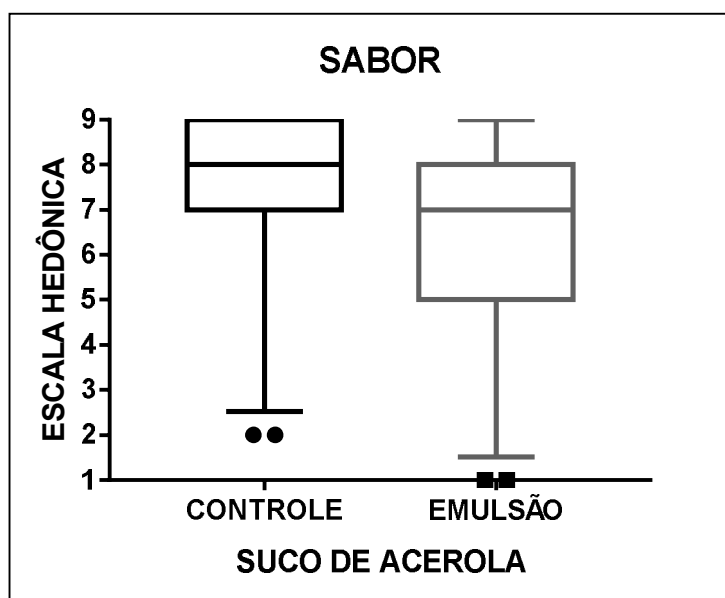
Fonte: FREITAS, A. P., 2019.

Figura 4 - Avaliação do sabor do suco de acerola controle e adicionado de emulsão imediatamente após o processamento (tempo 0)



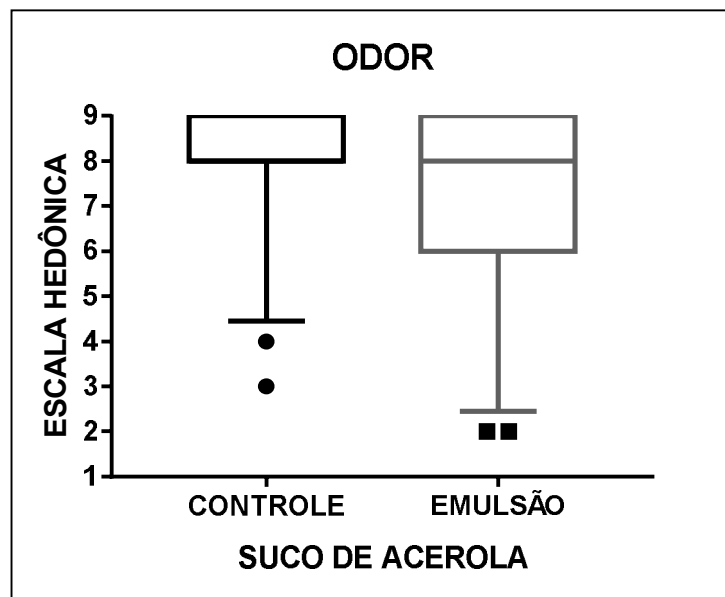
Fonte: FREITAS, A. P., 2019.

Figura 5 - Avaliação do sabor do suco de acerola controle e adicionado de emulsão no tempo 7 da vida de prateleira



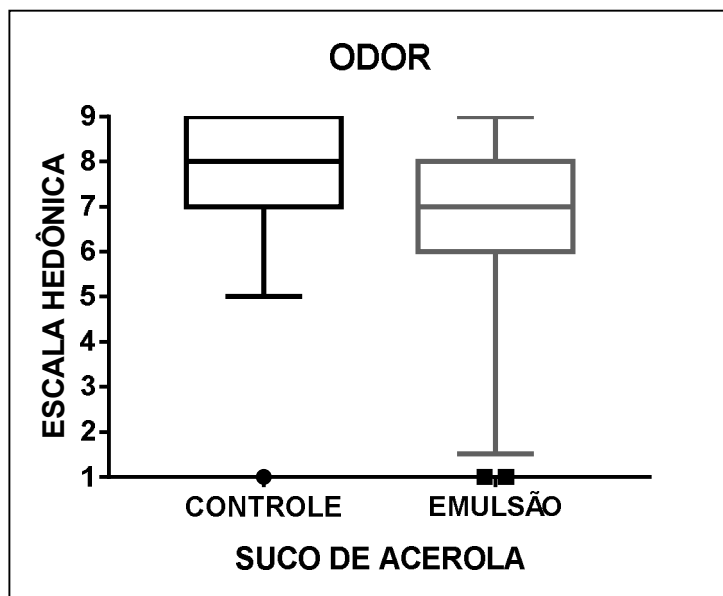
Fonte: FREITAS, A. P., 2019.

Figura 6 - Avaliação do odor do suco de acerola controle e adicionado de emulsão imediatamente após o processamento (tempo 0)



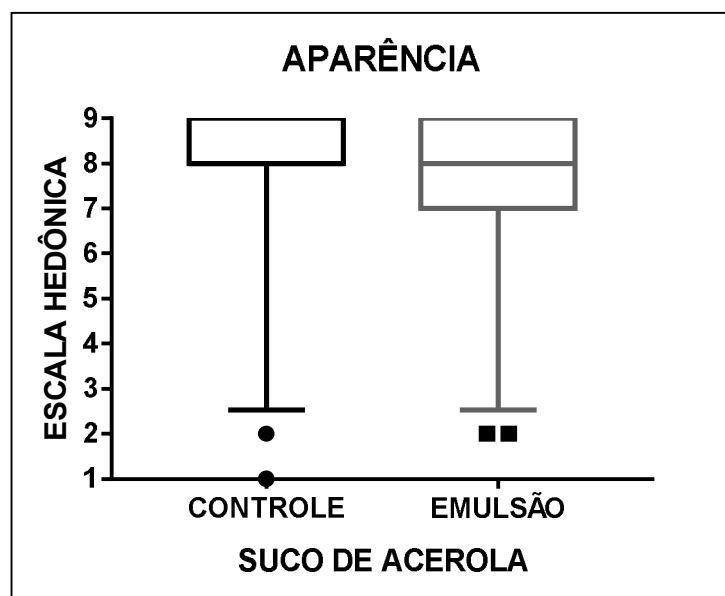
Fonte: FREITAS, A. P., 2019.

Figura 7 - Avaliação do odor do suco de acerola controle e adicionado de emulsão no tempo 7 da vida de prateleira



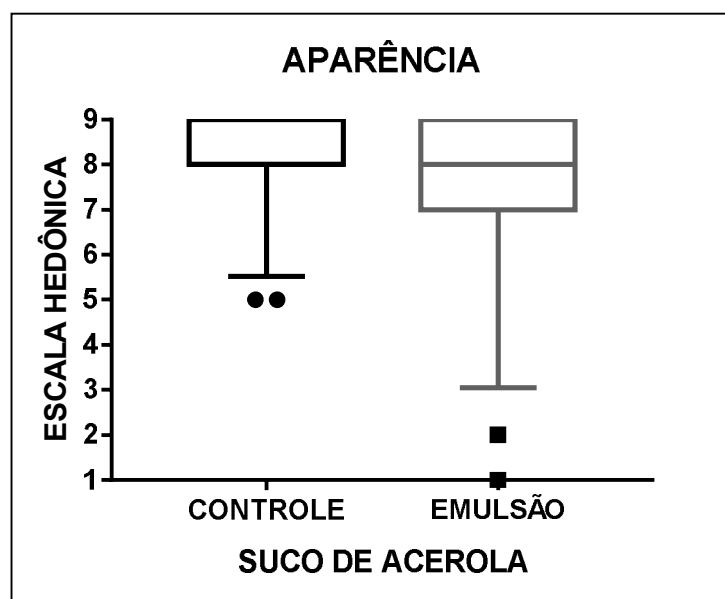
Fonte: FREITAS, A. P., 2019.

Figura 8 - Avaliação da aparência do suco de acerola controle e adicionado de emulsão imediatamente após o processamento (tempo 0)



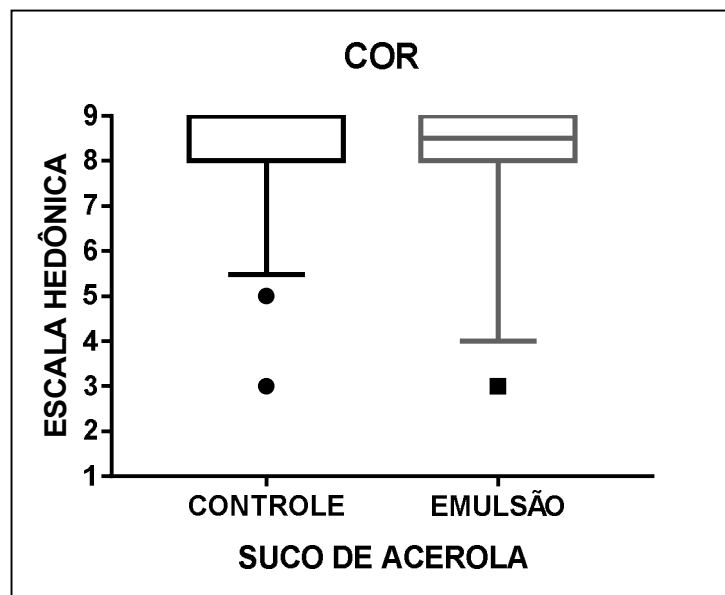
Fonte: FREITAS, A. P., 2019.

Figura 9 - Avaliação da aparência do suco de acerola controle e adicionado de emulsão no tempo 7 da vida de prateleira



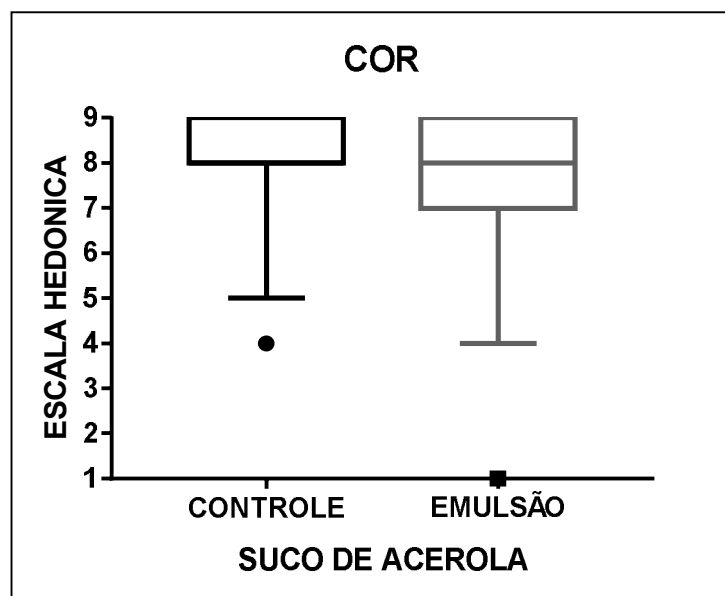
Fonte: FREITAS, A. P., 2019.

Figura 10 - Avaliação da cor do suco de acerola controle e adicionado de emulsão imediatamente após o processamento (tempo 0)



Fonte: FREITAS, A. P., 2019.

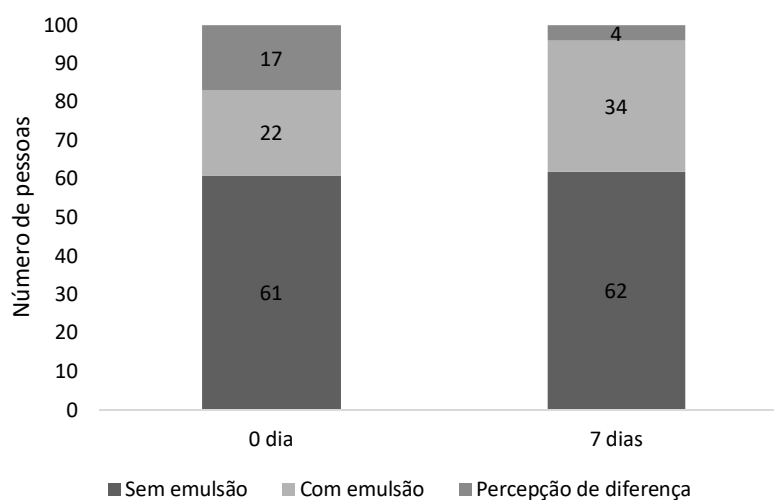
Figura 11 - Avaliação da cor do suco de acerola controle e adicionado de emulsão no tempo 7 da vida de prateleira



Fonte: FREITAS, A. P., 2019.

O suco de acerola preferido nos dois tempos (tempo 0 e tempo 7) foi o sem adição de emulsão, com mais de 60%. No entanto, o total de pessoas que preferiram o suco com óleo essencial de laranja e quitosana aumentou ao longo do armazenamento, atrelado à diminuição de pessoas que notaram diferença entre as amostras após 7 dias da vida de prateleira do suco (Figura 12).

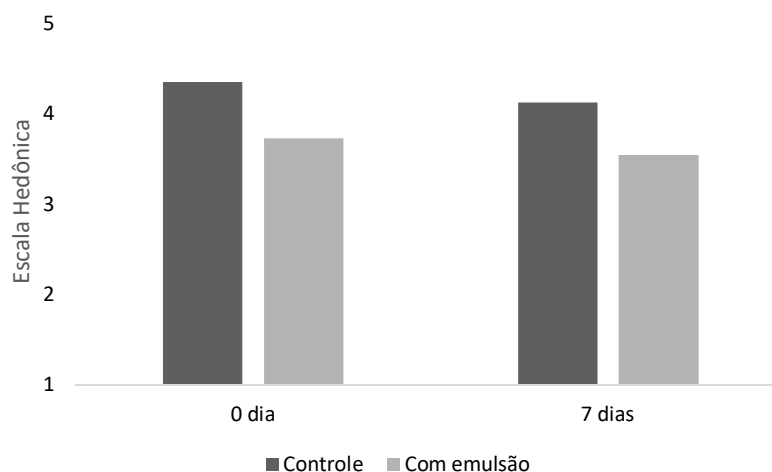
Figura 12 - Avaliação da percepção de diferença e preferência do suco de acerola com e sem emulsão imediatamente após o processamento (0 dia) e após 7 dias



Fonte: FREITAS, A. P., 2019.

A intenção de compra do suco de acerola controle e do suco adicionado de emulsão logo após o processamento foi de “possivelmente compraria” e “talvez comprasse/talvez não comprasse”, este resultado não se alterou ao longo do armazenamento (Figura 13).

Figura 13 - Teste de intenção de compra do suco de acerola sem e com adição de emulsão



Fonte: FREITAS, A. P., 2019.

7 DISCUSSÃO

7.1 Análises microbiológicas

Todas as amostras estavam de acordo com a Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, que preconiza os padrões microbiológicos para sucos de frutas. Os valores encontrados de coliformes totais (Coliformes a 35°C) e coliformes fecais (Coliformes a 45°C) inferiores a 3 NPM/mL e a ausência de *Salmonella* spp. nas amostras avaliadas ao longo do armazenamento podem ser explicados devido a ação antimicrobiana do óleo essencial e da quitosana e boas práticas de processamento. No entanto, o baixo pH intrínseco do suco de acerola provavelmente também contribuiu para esses efeitos inibitórios.

Os efeitos microbiológicos de diferentes concentrações (2 a 10 µL/mL) de óleos essenciais de capim-limão, canela, e cravo sobre *Salmonella Enteritidis*, *E.coli* e *Listeria innocua* em sucos de maçã, pera e melão foram avaliados. Nos sucos de maçã e pêra, 2 µL/mL de OE de canela ou OE de capim-limão apresentaram efeitos contra ambas as bactérias-alvo após 24 h de incubação a 35 °C. No caso dos sucos de melão, foram observados efeitos letais contra as bactérias alvo quando 5 e 10 µL/mL de OE de capim-limão e canela, respectivamente, foram adicionados aos sucos. No entanto, como no presente estudo com suco de acerola, os efeitos nocivos contra essas bactérias também foram observados em sucos sem OE, e esse fato possivelmente esteve associado à influência do pH do suco. Sucos de maçã e pêra são mais ácidos (pH 4,2 e 3,9, respectivamente) que suco de melão (pH 5,9) (RAYBAUDI-MASSILIA *et al.*, 2006).

Somado a isso, alguns estudos têm relatado efeitos antibacterianos mais altos de óleos essenciais em pH ácido, como o do suco de acerola deste estudo, em que o OE pode se comportar mais hidrofobicamente e entrar nas células bacterianas com mais facilidade (SMITH-PALMER *et al.*, 2001; GUTIERREZ *et al.*, 2009; NEGI, 2012; MANSO *et al.* 2015).

7.2 Análises físico-químicas

Durante o período de armazenamento, os sucos de frutas apresentam mudanças nos parâmetros físico-químicos que afetam negativamente a composição nutricional, as características sensoriais e o valor de mercado. A incorporação de OE ou seus componentes em sucos de frutas podem influenciar essas alterações ao longo do tempo, positiva ou

negativamente. Tais impactos físico-químicos e sensoriais variam com o tipo de suco e a concentração de óleo essencial incorporada nos sucos (SOUZA *et al.*, 2016).

7.2.1 Sólidos Solúveis Totais (SST)

Todos os valores de Sólidos Solúveis Totais encontrados (7,3 a 7,1°Brix) estão dentro dos preconizados pelo Padrão de Identidade e Qualidade (mínimo 5°Brix) de suco de acerola (BRASIL, 2018). Os resultados estão de acordo com Barbosa *et al.* (2015), Matta, Cabral & Silva (2004), Matsuura e Rolim (2002), que encontraram valores semelhantes em suco de acerola.

Os sólidos solúveis são usados como índice dos açúcares totais em frutas, indicando o grau de maturidade. São constituídos por todos compostos solúveis em água, como o açúcar, sais, ácidos orgânicos e algumas pectinas. A leitura do valor medido é a soma total desses (CAVALCANTI *et al.*, 2006). Os valores de Sólidos Solúveis totais podem variar devido a diferentes fatores, como ambiente genético, ambiente de cultivo, práticas de manejo e tempo de maturação do fruto (QUADIR *et al.*, 2006).

Diana *et al.* (2009) verificaram que a quitosana reduziu significativamente o valor °Brix dos sucos quando estudaram a ação deste composto na estabilidade do suco de laranja. A redução dos SST com a adição de quitosana pode ser explicada pela habilidade desse polímero positivamente carregado coagular os sólidos suspensos por meio da ligação aos açúcares carregados negativamente (SAPERS, 1992). No entanto, neste estudo, a adição de OE de laranja e quitosana diminuiu pouco o valor de SST do suco de acerola, quando comparado com a controle. Este resultado pode ser explicado devido à incorporação de OE ao suco.

Guedes *et al.* (2016), estudando a influência dos OE de *Mentha arvensis* L. e *M. piperita* L. na manutenção de características de qualidade nos sucos de caju, goiaba, manga e abacaxi observaram que O ° Brix dos sucos de frutas testados não foram afetados com a adição dos óleos. Outros estudos avaliando a adição de limoneno, principal componente dos óleos essenciais de laranja (1,0, 5,0 e 10 g/L), capim-limão (1,25 e 0,625 µL/mL) e *M. piperita* L. (500 e 1000 ppm) aos sucos de pera, laranja, abacaxi e maçã, respectivamente, observaram similarmente um padrão de manutenção no °Brix de sucos adicionados de óleos essenciais, quando comparados com sucos sem este composto (KAPOOR *et al.*, 2008, 2014; DONSI *et al.*, 2011; MONTERO-PRADO *et al.*, 2011; PATRIGNANI *et al.*, 2013; KARAMAN *et al.*, 2016; LEITE *et al.*, 2016).

Não foram observadas alterações ao longo do tempo de armazenamento no suco com a emulsão. Isso está de acordo com outros autores (LEITE *et al.*, 2016; ALMEIDA *et al.*, 2018),

que não observaram interferência nos parâmetros físico químicos de sucos de caju, goiaba, manga e abacaxi adicionados de OE de menta.

7.2.2 pH

O pH do suco de acerola adicionado de emulsão (F1) não foi alterado ao longo do armazenamento, apresentando um valor de 2,81 na análise feita logo após o processamento e após 7 dias. Este resultado corrobora com Leite et al. (2016), que avaliaram a influência da adição de óleo essencial de capim limão (2,5 e 1,25 $\mu\text{L/mL}$) nos parâmetros físico químicos de suco de abacaxi. Os autores constataram que o EO de capim-limão preservou as propriedades físico-químicas do suco de abacaxi por 72 h de armazenamento sob refrigeração.

Kapoor; Singh e Singh (2011), obtiveram resultado semelhante ao avaliar a aplicação de óleo essencial de cardamomo (*Amomum subulatum Roxb.*) em suco de laranja doce (*Citrus sinensis*). A estabilidade do pH no suco que contem a emulsão pode ser explicada devido à concentração de óleo essencial, que causa comparativamente menos aumento na acidez e outras alterações bioquímicas, resultando em uma menor alteração do pH do que no suco sem o óleo (KAPOOR; SINGH; SINGH, 2011).

Houve uma redução do pH do suco controle (F1) com 7 dias de armazenamento, passando de 2,81 para 2,76. Resultados semelhantes foram mostrados por Barbosa et al. (2015) e Sousa et al. (2006) que verificaram uma redução desse parâmetro em suco de acerola e de açaí, respectivamente, ao longo do armazenamento. A diminuição do pH durante o armazenamento pode ser devido ao ácido da frutose, glicose e outros carboidratos (KAPOOR; SINGH; SINGH, 2008).

Os valores encontrados estão em consonância com a legislação atual (pH mínimo de 2,8) para suco de acerola (BRASIL, 2018), exceto a amostra controle no tempo 7, que apresentou pH de 2,76, o que o torna inviável para comercialização.

7.2.3 Acidez Titulável

Em relação à acidez, logo após o processamento não foi observada diferença entre o suco adicionado de óleo essencial de laranja e quitosana (F2) e o suco controle (F1). Após sete dias houve uma forte diminuição da acidez nas duas amostras analisadas, no entanto, esta redução foi maior no suco adicionado de emulsão, que passou de 2,18% para 0,76%, enquanto o suco controle passou de 2,17% a 0,83%. A menor redução da acidez no suco controle pode

ser uma indicação de deterioração do suco de frutas (KAPOOR; SINGH; SINGH, 2008). Este resultado corrobora com Barbosa et al. (2015), que também observou uma diminuição da acidez de suco de acerola com a adição de quitosana.

Rwan e Wu (1996) mostraram que a adição de quitosana reduziu o conteúdo de ácido cítrico em 56,6%. Esse feito pode ser explicado pela capacidade da quitosana, carregada positivamente mm pH baixo, se ligar aos ácidos, de carga negativa, diminuindo a acidez (EINBU; VARUM, 2003). Além do efeito da quitosana, a redução da acidez significativa na amostra F2 pode ser devido à aplicação do óleo essencial. A adição de 0,2 $\mu\text{L/mL}$ de óleo essencial de pimenta preta no suco de laranja induziu uma diminuição da acidez ao longo de 28 dias de armazenamento refrigerado (KAPOOR; SINGH; SINGH, 2014). Nas mesmas condições e período de armazenagem, efeitos semelhantes no teor de acidez foram induzidos pela incorporação de 0,1% de OE de cardamomo no suco de laranja (KAPOOR; SINGH; SINGH, 2011). O declínio da acidez pode ser devido à conversão de ácido em açúcar (KAPOOR; SINGH; SINGH, 2014).

Os valores encontrados no tempo 0 em todas as amostras foram maiores que as relatadas na literatura para suco de acerola, onde o percentual de acidez variou de 0,87% a 1,97% (MATSUURA; ROLIM, 2002; CHAVES *et al.*, 2004; MAIA *et al.*, 2007; BARBOSA *et al.*, 2015). Diversos fatores podem interferir na acidez de suco de frutas, como a decomposição por hidrólise, a oxidação ou a fermentação, que podem modificar a concentração de íons hidrogênio e, conseqüentemente, a acidez destes produtos (SILVA et al, 2005).

De acordo com Brasil (2018) o valor de acidez do suco com a emulsão no tempo 7 estava abaixo do preconizado pelo Padrão de Identidade Qualidade do suco de acerola (mínimo de 0,8%).

7.2.4 Açúcares Totais

Os valores de açúcares totais de todas as amostras, que variaram de 2,04 a 2,44 g/100g se encontraram a baixo do preconizado pela legislação atual para suco de acerola (mínimo de 4g/100g) (BRASIL, 2018). Chaves et al. (2004) também encontraram resultados semelhantes, com valores a baixo de 4g/100g. Moreira et al. (2016), verificaram um valor de 1,79 na polpa de acerola. A variação na concentração de açúcares de sucos de frutas estaria relacionada às variáveis que participam na fotossíntese como a intensidade de calor, a radiação solar e a umidade do solo.

Ao longo do armazenamento houve um aumento no teor de açúcares do suco de acerola, corroborando com Kapoor et al. (2008, 2011, 2014), quando avaliaram a influência de diferentes óleos essenciais em suco de laranja e abacaxi.

O aumento no teor de açúcares redutores pode ser devido à hidrólise de polissacarídeos ou devido à desidratação resultante da perda de umidade e diminuição da acidez do suco de frutas por alterações fisiológicas durante o armazenamento (KAPOOR; SINGH; SINGH, 2008).

7.2.5 Ácido Ascórbico

O teor de vitamina C foi de 900 a 1133 mg/100g. Todas as amostras se mostraram de acordo com a legislação (BRASIL, 2018), que preconiza o valor de no mínimo 800mg/100g de ácido ascórbico para suco de acerola. Valores semelhantes foram obtidos por Matsuura & Rolim (2002), que encontraram 1000 mg/100g em suco de acerola. A avaliação da vitamina C é um parâmetro da qualidade importante em suco de frutas, porque, em comparação com outros nutrientes, é muito mais sensível a vários modos de degradação no processamento e armazenamento de alimentos, conforme relatado por Ozkan et al. (2004).

Após sete dias de armazenamento houve redução de mais de 10% do conteúdo de ácido ascórbico em todas as amostras. Isso está de acordo com Freitas et al. (2006), que observaram uma redução de 45,12% do teor de ácido ascórbico ao final do armazenamento do suco de acerola. Yamashita et al. (2003) evidenciaram uma perda de 32% de ácido ascórbico no suco de acerola pasteurizado após 4 meses de armazenamento. Barbosa et al. também verificou uma redução no teor de ácido ascórbico ao longo da vida de prateleira do suco de acerola adicionado de quitosana, sendo este resultado associado à habilidade de acelerar o processo de oxidação do ácido ascórbico.

O teor de ácido ascórbico de sucos de frutas é reduzido com o avanço do período de armazenamento, pois é altamente sensível à oxidação, que converte ácido ascórbico em ácido desidroascórbico pela enzima ascorbinase (KAPOOR; SINGH; SINGH, 2008). A degradação de vitamina C em produtos de acerola ao longo do armazenamento também é influenciada pelo tipo de processamento, da temperatura e tempo de estocagem (FREITAS *et al.*, 2006).

7.3 Análise Sensorial

Em geral, a adição da emulsão de óleo essencial de laranja (*Citrus sinensis*) e quitosana interferiu a aceitação sensorial do suco de acerola, apresentando notas menores quando comparada com a amostra controle. Esta interferência corrobora com Barbosa et al. (2015), que avaliou a aceitação sensorial de suco de acerola adicionado de quitosana ao longo do armazenamento e também encontrou interferência pela inclusão do conservante. Diana et al. (2009), também encontraram uma redução da aceitação global do suco de laranja com a adição de quitosana, podendo isso ser explicado pelo sabor amargo da quitosana (HAN *et al.*, 2005).

A aceitação global do suco com óleo e quitosana aumentou após sete dias de armazenamento, passando de “gostei ligeiramente” para “gostei regularmente”, enquanto que a da amostra controle no tempo 7 diminuiu. Diante disso, pode-se afirmar que os compostos apresentaram um efeito positivo na estabilidade do suco, devido principalmente a redução da acidez (KAPOOR; SINGH; SINGH, 2014; BARBOSA *et al.*, 2015).

Os atributos sensoriais mais afetados com a adição da emulsão foram o odor e sabor. Diferente do encontrado no presente estudo, Espina et al. (2014) não encontram diferenças significativas no sabor e odor de sucos de laranja adicionados de 50 ou 100 ppm de OE laranja. A aceitação sensorial das amostras contendo OE de laranja foi maior do que a do seu controle. Uma possível justificativa para alteração, pode ter sido pelo sabor amargo da quitosana, e o sabor e odor do limoneno, principal constituinte do OE de laranja (ESPINA *et al.*, 2014), não harmonizarem com o sabor e odor característicos da acerola.

Guedes et al. (2016) também encontraram maiores alterações no sabor e odor de sucos contendo OE de *Mentha arvensis* L. e *M. piperita* L. recebendo pontuações mais baixas do que sucos sem OE. Os impactos de outros OE e constituintes foram avaliados em sucos de frutas. A incorporação de 0,25 µL/mL de OE de limão afetou positivamente o sabor do suco de maçã, embora o odor tenha sido percebido como desagradável em algumas amostras (TSERENNADMID *et al.*, 2011). No suco de tomate, 0,02 µL/mL de menta de poejo ou óleo de limão não afetou o sabor; no entanto, concentrações mais altas desses OE (0,1 ou 0,2 µL/mL) ou qualquer concentração testada (0,02, 0,1 ou 0,2 µL / mL) de OE de tomilho, OE de alecrim, carvacrol e p-cimeno afetaram o sabor (ESPINA *et al.*, 2014). A incorporação de 1,25 ou 2,5 µL/mL de OE de capim-limão no suco de abacaxi não afetou a aparência, o odor e a viscosidade do suco, embora mudanças insatisfatórias notáveis tenham sido encontradas no sabor, odor e aceitação geral (LEITE *et al.*, 2016).

Esses achados corroboram com os resultados das análises sensoriais obtidas neste estudo e reforçam o fato de que possíveis impactos negativos no paladar e no odor causados pela adição de OE podem limitar seu uso para aumentar a segurança e o prazo de validade dos sucos de frutas.

Após os 7 dias de armazenamento a percepção de diferença do suco sem para o suco com emulsão do painel diminuiu e a preferência pelo suco com emulsão aumentou. Este resultado enfatiza o aumento da aceitação do suco com os compostos após os 7 dias. No entanto, o suco sem o tratamento continuou sendo o preferido, demonstrando o impacto sensorial do OE de laranja e da quitosana.

8 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciaram a interferência negativa da emulsão de Óleo Essencial de laranja e quitosana nos parâmetros físico-químicos e sensoriais do suco de acerola, como a diminuição excessiva da acidez e a baixa aceitação sensorial do produto.

Pode-se inferir que estes compostos tem potencial para serem aplicados em suco de frutas, no entanto combinações com outros métodos de preservação podem ser necessárias para diminuir a dose efetiva e, assim, minimizar os impactos negativos no odor e no paladar. Estudos adicionais são necessários a fim de reduzir o impacto das emulsões sob as características sensoriais do suco de acerola.

REFERÊNCIAS

- ABDELMALEK, B. E.; SILAA A.; HADDARA, A.; BOUGATEFA, A.; AYADIB, M. A. β -Chitin and chitosan from squid gladius: Biological activities of chitosan and its application as clarifying agent for apple juice. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 104, n. 1, p. 953-962, 2017.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE REFRIGERANTES E DE BEBIDAS NÃO ALCOÓLICAS. **Volume de produção do mercado brasileiro de néctares e sucos prontos dos anos de 2010 a 2017**. [s.l.]: ABIR, 2019. Disponível em: <https://abir.org.br/>. Acesso em: 01 dez. 2019.
- AGÊNCIA BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO INDUSTRIAL. ABDI. **Relatório de acompanhamento setorial frutas processadas**. [s.l.]: ABDI, 2009. Disponível em: https://www.eco.unicamp.br/neit/images/stories/arquivos/RelatorioABDI/Frutas_processadas_vol_IV.pdf. Acesso em: 01 dez. 2019.
- ALBASHAN, M. M. Acid Tolerance of *Escherichia coli* O157: H7 Serotype and *Salmonella typhi* (A group D serotype) and their survival in apple and orange juices. **World Journal of Medical Sciences**, Amsterdam, v. 4, n. 1, p. 33-40, 2009.
- ALMEIDA, E. T. C.; BARBOSA, I. M.; TAVARES, J. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MAGNANI, M.; SOUZA, E. L. Inactivation of Spoilage Yeasts by *Mentha spicata* L. and *M. × villosa* Huds. Essential Oils in Cashew, Guava, Mango, and Pineapple Juices. **Frontiers in Microbiology**, Switzerland, v. 9, n. 1111, 2018.
- ALONZO, A.G. Influences of simultaneous physicochemical stresses on injury and subsequent heat and acid resistances of *Salmonella Enteridis* in apple juice. **Food Control**, Oxford, v. 31, n. 1, p. 28–34, 2013.
- ANVISA. **Cartilha sobre Boas Práticas para Serviços de Alimentação**. Brasília: Anvisa, 2004. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/389979/Cartilha+Boas+Pr%C3%A1ticas+para+Servi%C3%A7os+de+Alimenta%C3%A7%C3%A3o/d8671f20-2dfc-4071-b516-d59598701af0>. Acesso em: 05 dez. 2019.
- ARAÚJO, J. S. F. **Micropartículas de óleo essencial de laranja doce (*citrus aurantium* var. *Dulcis*) em matriz de gelatina e maltodextrina**. 2019. 40 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) - Programa de Pós Graduação em Sistemas Agroindustriais, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2019.
- AUN, M. V. et al. Aditivos em alimentos. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 177-185, 2011.
- BAKKALI F. et al. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BALLA C, FARKAS J. 2006. Minimally processed fruits and fruit products and their microbiological safety. In: Hui YH, Barta J, Cano MP, Gusek T, Sidhu JS, Sinha N, editors. **Handbook of fruits and fruit processing**. Ames, Iowa: Blackwell Publishing. p. 115–28.
- BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL. **Panorama do setor de bebidas no Brasil**. Rio de Janeiro: BNDS, 2006, n. 23, p. 101-150. Disponível em: <https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/?locale=pt_BR> Acesso em: 1 dez. 2019.

BARBOSA, I. C. et al. Potential of chitosan as an Acerola (*Malpighia glabra* L.) juice natural preservative. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, Tamilnadu, India, v. 4, n. 8, p. 929-942, 2015.

BARBOSA, I. C. **Uso de quitosana como alternativa natural para a conservação de suco de acerola**. 2011. Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

BARBOSA, I. C.; STAMFORD, T. C. M.; BERGER, L. R. R.; MELO, N. F. C. B.; PINTADO, M.; STAMFORD, T. L. M. Potential of chitosan as an Acerola (*Malpighia glabra* L.) juice natural preservative. **International Journal of Current Microbiology and Applied Science**, Tamilnadu, India, v. 4, n. 8, p. 929-942, 2015.

BARRETO, T. A.; ANDRADE, S. C. A.; MACIEL, J. F.; ARCANJO, N. M. O.; MADRUGA, M. S.; MEIRELES, B.; CORDEIRO, A. M. T.; SOUZA, E. L.; MAGNANI, M. A Chitosan Coating Containing Essential Oil from *Origanum vulgare* L. to Control Postharvest Mold Infections and Keep the Quality of Cherry Tomato Fruit. **Frontiers in Microbiology**, Switzerland, v. 7, n. 1724, 2016.

BARTH, M.; HANKINSON, T. R.; ZHUANG, H.; BREIDT, F. Microbiological spoilage of fruits and vegetables. In: SPERBER, W. H.; DOYLE, M. P. (Eds.), *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages*. **Food Microbiology and Food Safety**, Berlin, 2009. p. 135–183.

BASSOLÉ, I. H. N.; JULIANI, H. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. **Molecules**, Basileia, Suíça, v. 17, n.4, p. 3989–4006, 2012.

BENTO, R. A. **Bioatividade de quitosana produzida por *Mucor roxxi* no controle de *Listeria monocytogenes* em produto cárneo**. 2008. 110f. Tese (Doutorado em Nutrição) – Universidade federal de Pernambuco, Recife, 2008.

BERTO, D. Bebidas não alcoólicas – Apelo “saúdável” impulsiona consumo. **Food Ingredients**, São Paulo, n. 24, p. 32-34, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 12, de 4 de setembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade Gerais para Suco Tropical. **Diário Oficial da União**, Brasília, Poder Executivo, de 09 de setembro de 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 37, de 1º de outubro de 2018. Estabelece os parâmetros analíticos de suco e de polpa de frutas e demais quesitos complementares aos padrões de identidade e qualidade. **Diário Oficial da União**, de 08 de outubro de 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos de alimentos. **Diário Oficial da União**, de 10 de janeiro de 2001.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods — a review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 94, n. 3, p. 223–53, 2004.

CALO, J. R.; CRANDALL, P. G.; O'BRYAN, C. A.; RICKE, S. C. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. **Food Control**, Oxford, v. 54, n. 1, p. 111–119, 2015.

CARDOSO, J. A. C.; ROSSALES, R. R.; LIMONS, B.; REIS, S. F.; SCHUMACHER, B. O.; HELBIG, E. Teor e estabilidade de vitamina C em sucos in natura e industrializados. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 460-469, 2015.

CARMO, M. C. L.; DANTAS, M. I. S.; RIBEIRO, S. M. R. Caracterização do mercado consumidor de sucos prontos para o consumo. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 305-309, 2014.

CAVALCANTI, A. L.; OLIVEIRA, K. F.; PAIVA, P. S.; Dias, M. V. R.; COSTA, S. K. P.; VIEIRA, F. F. Determinação dos Sólidos Solúveis Totais (°Brix) e pH em Bebidas Lácteas e Sucos de Frutas Industrializados. **Redalyc**, España, v. 6, n. 1, p. 57-64, 2006.

CHAVES, M. C. V.; GOUVEIA, J. P. G.; ALMEIDA, F. A. C.; LEITE, J. C. A.; SILVA, L. H. Caracterização físico-química do suco da acerola. **Revista de biologia e ciências da terra**, Paraíba, v. 4, n. 2, 2004.

CHENG, H. Y.; YU, R. C.; CHOU, C. C. Increased acid tolerance of *Escherichia coli* O157:H7 as affected by acid adaptation time and conditions of acid challenge. **Food Research International**, Amsterdam, v. 36, n. 1, p. 49-56, 2003.

CHUECA, B.; RAMÍREZ, N.; ARVIZU-MEDRANO, S. M.; GARCÍA-GONZALO, D.; PAGÁN, R. Inactivation of spoiling microorganisms in apple juice by a combination of essential oils' constituents and physical treatments. **Food Science and Technology International**, London, v. 22, n. 5, p. 389-398, 2015.

CNA. **Confederação da Agricultura e Pecuária no Brasil**. Brasil, 2017. Disponível em: <http://www.cnabrazil.org.br/artigos/chegou-vez-da-fruticultura>. Acesso em: 06 ago. 2019.

DEMIATE, I. M.; WOSIACKI, G.; CZELUSNIAK, C.; NOGUEIRA, A. Determinação de açúcares redutores e totais em alimentos. Comparação entre método colorimétrico e titulométrico. **Ciências Exatas e da Terra, C. Agrárias e Engenharias**, Paraná, v. 8, n. 1, p. 65-78, 2002.

DEVLIEGHIERE F.; VERMEULEN, A.; DEBEVERE J. Chitosan: antimicrobial activity, interaction with food components and applicability as a coating on fruits and vegetables. **Food Microbiology**, London, v. 21, n. 6, p. 703-714, 2004.

DIANA, A. B. M.; RICO, D.; BARAT, J. M.; BARRY-RYAN, C. Orange juices enriched with chitosan: Optimisation for extending the shelf-life. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, England, v. 10, n. 4, p. 590-600, 2009.

DONSI, F.; ANNUNZIATA, M.; SESSA, M.; FERRARI, G. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 44, n. 9, p.1908-1914, 2011.

EINBU, A.; VARUM, K. M. Structure-property relationship in chitosan. **Chemical and functional properties of food saccharides**, England, p. 223, 2003.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. EMBRAPA. A cultura da acerola. 3. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2012. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/128278/1/PLANTAR-Acerola-ed03-2012.pdf>>. Acesso em: 10 dez. 2019.

ESPINA, L. M. **Evaluación de la actividad antimicrobiana y del impacto sensorial del empleo de aceites esenciales em combinación con tecnologías de conservación de alimentos**. 2015. 354 f. Tese (Doutorado em nutrição) – Universidad Zaragoza, Zaragoza, Espanha, 2015.

ESPINA, L.; GARCIA-GONZALO D.; LAGLAOUI A.; MACKEY B.M.; PAGÁN R. Synergistic combinations of high hydrostatic pressure and essential oils or their constituents and their use in preservation of fruit juices. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 161, n. 1, p. 23–30, 2013.

ESPINA, L.; SOMOLINOS, M.; LOR'NA, S.; CONCHELLO, P.; GARC'IA, D.; PAGAN, R. Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. **Food Control**, Oxford, v. 22, n. 6, p. 896–902, 2011.

FERREIRA, A.P. R.; SALES L. G. M.; CAVALCANTE, M. M. S.; CUNHA, N. R.; RIBEIRO, S. G. Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de sucos tropicais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 20., 2014, Florianópolis. **Anais [...]** Florianópolis: [s,n.], 2014.

FEYZIOGLU, G. C.; TORNUK, F. Development of chitosan nanoparticles loaded with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil for antimicrobial and antioxidant delivery applications. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, England, v. 70, n. 1, p. 104–110, 2016.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? **Trends in Food Science & Technology**, London, v. 19, n. 3, p. 156–164, 2008.

FLANAGAN, J.; SINGH, H. Microemulsions: a potential delivery system for bioactives in food. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v. 46, n. 3, p. 221–37, 2006.

FREITAS, C. A. S.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; BRASIL, I. M.; PINHEIRO, A. M. Storage stability of acerola tropical fruit juice obtained by hot fill method. **International Journal of Food Science and Technology**, Malden, v. 41, n. 10, p. 1216–1221, 2006.

FRIEDMAN, M.; HENIKA, P. R.; LEVIN, C. E.; MANDRELL, R. E. Antibacterial activities of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* in apple juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 19, p. 6042–6048.

GARCIA, R. C. G; OLIVEIRA, E. N. A. O.; JOSINO, S. A.; MORI, E. Qualidade microbiológica de sucos in natura comercializados na cidade de Juazeiro do Norte-CE. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Paraná, v. 6, n. 1, p. 665–670, 2012.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações. São Paulo: Nobel, 2009. p. 511.

GHABRAIE, M.; VU, K. D.; TATA, L.; SALMIERI, S.; LACROIX, M. Antimicrobial effect of essential oils in combinations against five bacteria and their effect on sensorial quality of ground meat. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, England, v. 66, n.1, p. 332–339, 2016.

- GOÑI, P.; LÓPEZ, P.; SÁNCHEZ, C.; GÓMEZ-LUS, R.; BECERRIL, R.; NERÍN, C. Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. **Food Chemistry**, Oxford, v. 116, n. 4, p.982–989, 2009.
- GUERRA, I. C. D.; OLIVEIRA, P. D. L.; PONTES, A. L. S.; LÚCIO, A. S. S. C.; TAVARES, J. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MADRUGA, M. S.; SOUZA, E. L. Coatings comprising chitosan and *Mentha piperita* L. or *Mentha × villosa* Huds essential oils to prevent common postharvest mold infections and maintain the quality of cherry tomato fruit. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 214, n. 1, p. 168–178, 2015.
- GUERRA, I. C. D.; OLIVEIRA, P. D. L.; SANTOS, M. M. F.; LÚCIO, A. S. S. C.; TAVARES, J. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MADRUGA, M. S.; SOUZA, E. L. The effects of composite coatings containing chitosan and *Mentha (piperita* L. or *x villosa* Huds) essential oil on postharvest mold occurrence and quality of table grape cv. Isabella. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Oxford, v. 34, n.1, p.112–121, 2016.
- GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE, P. Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: efficacy, synergistic potential and interactions with food components. **Food Microbiology**, London, v. 26, n. 2, p. 142-150, 2009.
- HAN, C. LEDERER, C.; MCDANIEL, M.; ZHAO, Y. Sensory evaluation of fresh strawberries (*Fragaria anassa*) coated with chitosan-base edible coatings. **Journal of Food Science**, Malden, v. 70, n. 3, p. 172-178, 2005.
- HONORATO, T. C. et al. Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde**, Mossoró, v. 8, n. 5, p. 01-11, 2013.
- HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, Switzerland, v. 25, n. 3, p. 1-25, 2012.
- IMERI, A. G.; KNORR, D. Effect of chitosan on yield and compositional data of carrot and apple juice. **Journal of Food Science**, Malden, v. 53, n. 6, p. 1707-1709, 1988.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. 4.ed. São Paulo, IAL, 2008.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE. **Produção agrícola municipal**. Rio de Janeiro: IBGE, 2016. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas>>. Acesso em: 11 ago. 2016.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE. **Produção agrícola municipal**. Rio de Janeiro: IBGE, 2017. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas>>. Acesso em: 06 ago. 2019.
- IRSHAD, M.; MURTZA, A.; ZAFAR, M.; BHATTI, K.H.; REHMAN, A.; ANWAR, Z. Chitosan-immobilized pectinolytics with novel catalytic features and fruit juice clarification potentialities. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 104, n. 1, p. 242-250, 2017.
- KAPOOR, I. P. S.; SINGH, B.; SINGH, G. Essential oil and oleoresins of cardamom (*Amomum subulatum* Roxb.) as natural food preservatives for sweet orange (*Citrus sinensis*) juice. **Journal of Food Process Engineering**, Malden, v. 34, n. 4, p. 1101–1113, 2011.

- KAPOOR, I. P. S.; SINGH, B.; SINGH, G. Essential oil and oleoresins of *Cinnamomum tamala* (tejpat) as natural food preservatives for pineapple fruit juice. **Journal of Food Processing and Preservation**, Malden, v. 32, n. 5, p. 719–728, 2008.
- KAPOOR, I. P. S.; SINGH, B.; SINGH, S.; SINGH, G. Essential oil and oleoresins of black pepper as natural food preservatives for orange juice. **Journal of Food Processing and Preservation**, Malden, v. 38, n. 1, p. 146–52, 2014.
- KARAMAN, K.; SAGDIC, O.; YILMAZ, M.T. Multiple response surface optimization for effects of processing parameters on physicochemical and bioactive properties of apple juice inoculated with *Zygosaccharomyces rouxii* and *Zygosaccharomyces bailii*. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, England, v. 69, p. 258–272, 2016.
- KHANDPUR P.; GOGATE P.R. Evaluation of ultrasound based sterilization approaches in terms of shelf life and quality parameters of fruit and vegetable juices. **Ultrason Sonochem**, Amstersam, v. 29, n. 1, p. 337–53, 2016.
- KISKO, G. et al. Chitosan inactivates spoilage yeasts but enhances survival of *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice. **Journal of Applied Microbiology**, Malden, v. 98, p. 872–880, 2005.
- KISKO, G.; ROLLER, S. Carvacrol and p-cymene inactivate *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice. **BMC Microbiology**, London, v. 36, n. 5 p. 1–9, 2005.
- KNOWLES, J. R.; OLLER, S. Efficacy of chitosan, carvacrol and a hydrogen peroxide based biocide against food borne microorganisms in suspension and adhered to stainless steel. **Journal of Food Protection**, Des Moines, n. 64, p. 1542–1548, 2001.
- LACERDA, M. A. D.; LACERDA, R. D. O Cluster da fruticultura no Polo Petrolina/Juazeiro. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Paraíba, v. 4, n. 1, 2004.
- LADO, B. H.; YOUSEF, A. E. Alternative food-preservation technologies: efficacy and mechanisms. **Microbes and Infection**, Amsterdam, v. 4, p. 433–440, 2002.
- LEE, E. H.; KHAN, I.; OH, D. Evaluation of the efficacy of nisin-loaded chitosan nanoparticles against foodborne pathogens in orange juice. **Journal Food Science Technology**, Amsterdam, v. 55, n. 3, p. 1127–1133, 2018.
- LEISTNER, L. Food preservation by hurdle technology. **Trends in Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 6, p. 41–46, 1995.
- LEITE, C. J. B.; SOUSA, J. P.; MEDEIROS, J. A. C.; CONCEIÇÃO, M. L.; FALCÃO SILVA, V. S.; SOUZA, E. L. Inactivation of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis* by *Cymbopogon citratus* D.C. Stapf. essential oil in pineapple juice. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 79, p. 213–219, 2016.
- LIMA OLIVEIRA, P. D.; DE OLIVEIRA, K. Á. R.; VIEIRA, W. A. DOS S.; CÂMARA, M. P. S.; SOUZA, E. L. Control of anthracnose caused by *Colletotrichum* species in guava, mango and papaya using synergistic combinations of chitosan and *Cymbopogon citratus* (D.C. ex Nees) Stapf. essential oil. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 266, p. 87–94, 2018.
- LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, L. S. Avaliação da qualidade de suco de laranja industrializado. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 18, n. 1, p. 95–104, 2000.

LÓPEZ, P.; SÁNCHEZ, C.; BATLLE, R.; NERÍN, C. Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, p. 6939–6946, 2005.

MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; SANTOS, G. M.; SILVA, D. S.; FERNANDES, A. G.; PRADO, G. M. Efeito do processamento sobre componentes do suco de acerola. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 130-134, 2007.

MALINOWSKA-PAŃCZYK, E.; KOODZIEJSKA, I.; MURAWSKA, D.; WOOSIEWICZ, G. The Combined Effect of Moderate Pressure and Chitosan on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Cells Suspended in a Buffer and on Natural Microflora of Apple Juice and Minced Pork. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v. 47, n. 2, p. 202-209, 2009.

MANSO, S.; BECERRIL, R.; NERÍN, C.; GÓMEZ-LUS, R. Influence of pH and temperature variations on vapor phase action of an antifungal food packaging against five mold strains. **Food Control**, Oxford, v. 47, p. 20–26, 2015.

MATSUURA, F. C. A. U.; ROLIM, R. B. Avaliação da adição de suco de acerola em suco de abacaxi visando à produção de um “blend” com alto teor de vitamina C. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 138-141, 2002.

MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C.; SILVA, L. F. M. Suco de acerola microfiltrado: avaliação da vida-de-prateleira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n.2, p. 293-297, 2004.

MCCANN, D.; BARRETT, A.; COOPER, A.; CRUMPLER, D.; DALEN, L.; GRIMSHAW, K.; KITCHIN, E.; LOK, K.; PORTEOUS L.; PRINCE, E.; SONUGA-BARKE, E.; WARNER, J. O.; STEVENSON, J. Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. **The Lancet**, London, v. 370, n. 9598, p. 1560-1567, 2007.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 3. ed. New York: CRC, 1999.

MITH, H.; DURÉ, R.; DESCENSERIE, V.; ZHIRI, A.; DAUBE, G.; CLINQUART, A. Antimicrobial activities of commercial essential oils and their components against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. **Food Science & Nutrition**, United Kingdom, v. 2, n. 4, p. 403–416, 2014.

MOHAMED, M. E. A.; EISSA, A. H. A. Pulsed electric fields for food processing technology. In: InTech. (Eds.), **Structure and Function of Food Engineering**, Rijeka, Croatia, p. 275-306, 2012.

MONTERIO, S. Fruta para beber. Frutas e derivados. **Publicação Trimestral da IBRAF**. São Paulo, v. 1, n. 1, p. 28-31, 2006.

MONTERO-PRADO, P.; RODRIGUEZ-LAFUENTE, A.; NERIN, C. Active label-based packaging to extend the shelf-life of “Calanda” peach fruit: changes in fruit quality and enzymatic activity. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 60, n.3, p. 211–219, 2011.

MOREIRA, N.G.; SANTOS FILHO, W.L.G.; LIMA, E.S.; LIMA, W.R.; OLIVEIRA, G.P.; LIMA, J.M.P.; SANTANA, A.L.; PINHEIRO, I.C.; MACHADO, J. L. F. Avaliação da

qualidade físico-química de polpas de acerola comercializadas na cidade de Redenção – PA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 56, 2016, Belém do Pará.

MOSQUEDA-MELGAR, J.; RAYBAUDI-MASSILIA, R. M.; MARTÍN-BELLOSO O. Influence of treatment time and pulse frequency on *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* populations inoculated in melon and watermelon juices treated by pulsed electric fields. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 117, n. 2, p. 192–200, 2007.

MOSQUEDA-MELGAR, J.; RAYBAUDI-MASSILIA, R. M.; MARTÍN-BELLOSO, O. Non-thermal pasteurization of fruit juices by combining high-intensity pulsed electric fields with natural antimicrobials. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, England, v. 9, p. 328–340, 2008.

MOSQUEDA-MELGAR, J.; RAYBAUDI-MASSILIA, R. M.; MARTÍN-BELLOSO, O. Microbiological shelf life and sensory evaluation of fruit juices treated by high-intensity pulsed electric fields and antimicrobials. **Food and Bioproducts Processing**, Rugby, v. 90, n. 2, p. 205–214, 2012.

MUÑOZ, A.M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation in quality control**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. 240 p.

NEGI, P.S. Plant extracts for the control of bacterial growth: efficacy, stability, and safety issues for food application – a review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 156, n. 1, p. 7–17, 2012.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO. FAO. FAOSTAT. Divisão de estatística. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 06 ago. 2019.

PARISH, M. E. Food safety issues and the microbiology of fruit beverages and bottled water. In: Heredia N, Vesley I, and Garcia S, editors. **Microbiologically safe foods**. New York: John Wiley & Sons. p. 291–304, 2009.

PATRIGNANI, F.; TABANELLI, J.; SIROLI, L.; GARDINI, F.; LANCIOTTI, R. Combined effects of high-pressure homogenization treatment and citral on microbiological quality of apricot juice. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v. 160, p. 273–281, 2013.

PATRIGNANI, F.; TABANELLI, J.; SIROLI, L.; GARDINI, F.; LANCIOTTI, R. Combined effects of highpressure homogenization treatment and citral on microbiological quality of apricot juice. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 160, p. 273–281, 2013.

PERRICONE, M.; ARACE, E.; CORBO, M. R.; SINIGAGLIA, M.; BEVILACQUA, A. Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. **Frontiers in Microbiology**, Switzerland, v. 6, n. 76, p. 1–7, 2015.

PIMENTA, S. F. **Percepção da população do Distrito Federal quanto ao risco da presença de contaminantes químicos em alimentos**. 2003. 52 f. Monografia (Especialização em Qualidade em Alimentos) – Centro de Excelência em Turismo, Universidade de Brasília, Brasília, 2003.

PINHEIRO, A. M.; FERNANDES, A. G.; FAI, A. E. C.; PRADO, G. M.; SOUSA, P. H. M.; MAIA, G. A. Avaliação química, físico-química e microbiológica de sucos de frutas integrais:

abacaxi, caju e maracujá. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 98-103, 2006.

POLÔNIO, M. L. T.; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 8, p. 1.653-1.666, 2009.

QIU, S.; WANG, J. The prediction of food additives in the fruit juice based on electronic nose with chemometrics. **Food Chemistry**, Oxford, v. 230, n. 1, p. 208-214, 2017.

RAYBAUDI-MASSILIA, R. M.; MOSQUEDA-MELGAR J.; MARTIN-BELLOSO, O. Antimicrobial activity of essential oils on *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli*, and *Listeria innocua* in fruit juices. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 69, n. 7, p. 1579-86, 2006.

RAYBAUDI-MASSILIA, R. M.; MOSQUEDA-MELGAR, J.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTIN-BELLOSO, O. Control of pathogenic and spoilage microorganisms in fresh cut fruits and fruit juices by traditional and alternative natural antimicrobials. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Malden, v. 8, n.3, p. 157-180, 2009.

RHOADES, J.; ROLLER, S. Antimicrobial actions of degraded and native chitosan against spoilage organisms in laboratory media and foods. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 1, p. 800-806, 2000.

RODRIGUES, V. F. B. **Avaliação de produtos industrializados quanto ao uso de aditivos alimentares**. 2017. 32 f. Monografia (Curso de especialização em Gestão da Produção de Refeições Saudáveis) - Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

ROJAS-GRAÜ, M. A., SOLIVA-FORTUNY, R., MARTÍN-BELLOSO, O. Edible coatings: past, present and future. **Stewart Postharvest Review**, Amsterdam, v. 6, n. 3, 1-5, 2010.

RWAN, J.; WU, J. Deacidification of Grapefruit Juice with Chitosan. **Journal of Food Science**, Malden, v. 23, p. 509, 1996.

SAGALOWICZ, L.; LESER, M. E. Delivery systems for liquid food products. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 15, n. 2, p. 61-72, 2010.

SANTOS, A. O. et al. Atividade antibacteriana e antioxidante de óleos essenciais cítricos com potencialidade para inclusão como aditivos em alimentos. **Caderno de Ciências Agrárias**, Minas Gerais, v. 8, n. 3, p. 15-21, 2016.

SAPERS, G. M. Chitosan enhances control of enzymatic browning in apple and pear juice by filtration. **Journal of Food Science**, Malden, v. 57, n. 5, p. 1192, 1992.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. SEBRAE. O cultivo e o mercado da acerola. Brasil, 2016. Disponível em: <https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-da-acerola,db7b9e665b182410VgnVCM100000b272010aRCRD#>>. Acesso em: 10 dez. 2019.

SILVA, P. T.; FIALHO, E.; LOPES, M. L. M.; VALENTE-MESQUITA, V. L. Sucos de laranja industrializados e preparados sólidos para refrescos: estabilidade química e físico-química. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 597-602, 2005.

SILVA, R. A.; SALIMENA, A. P. S.; SOUZA, P. R. R. Suco de frutas e qualidade microbiológica. **Ces revista**, Juiz de Fora, v. 28, n. 1. p. 158-168, 2014.

SMITH-PALMER, A.; STEWART, J.; FYFE, L. The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. **Food Microbiology**, London, v. 18, p. 463–470, 2001.

SOCIEDADE NACIONAL DE AGRICULTURA. SNA. 2019. Disponível em: <https://www.sna.agr.br/pesquisa-mostra-que-brasileiros-estao-consumindo-mais-frutas-legumes-e-verduras/>. Acesso em: 01 dez. 2019.

SOTELO-BOYÁS, M. E.; CORREA-PACHECO, Z. N.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; CORONA-RANGEL, M. L. Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles and nanocapsules incorporated with lime essential oil and their antibacterial activity against food-borne pathogens. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, England, v. 77, n. 1, p. 15–20, 2017.

SOUSA, J. P. **Eficácia de óleos essenciais de *mentha* spp. no controle de bactérias patogênicas em sucos de frutas**. 2017. 133f. Tese (Doutorado em Nutrição) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

SOUSA, J. P.; OLIVEIRA, K. A. R.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q.; SOUZA, E. L. Influence of Carvacrol and 1,8-Cineole on Cell Viability, Membrane Integrity, and Morphology of *Aeromonas hydrophila* Cultivated in a Vegetable-Based Broth. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 78, n. 2, p. 424–429, 2015.

SOUZA, B. A.; PIA, K. K. S.; BRAZ, N. G.; BEZERRA, A. S. Aditivos Alimentares: Aspectos Tecnológicos e Impactos na Saúde Humana. **Revista Contexto & Saúde**, São Paulo, v. 19, n. 36, 2019.

SOUZA, E. L.; SALES, C. V.; OLIVEIRA, C. E.V.; LOPES, L. A. A.; CONCEIÇÃO, M. L.; BERGER, L. R. R.; STAMFORD, T. C. M. Efficacy of a coating composed of chitosan from *Mucor circinelloides* and carvacrol to control *Aspergillus flavus* and the quality of cherry tomato fruits. **Frontiers Microbiology**, Malden, v. 6, n. 732, 2015.

SOUZA, E.L., ALMEIDA, E.T.C., SOUSA GUEDES, J.P. The potential of the incorporation of essential oils and their individual constituents to improve microbial safety in juices: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Malden, v. 15, n. 4, p. 753–772, 2016.

SOZER, N.; KOKINI, J. L. Nanotechnology and its applications in the food sector. **Trends in Biotechnology**, Oxford, v. 27, n. 2, p. 82-89, 2009

STONE, H.; BLEIBAUM, R. N.; THOMAS, H. A. **Sensory evaluation practices**. 4 ed. New York: Academic Press, 2012. 446 p.

TARIFA, M. C.; LOZANO, J. E.; BRUGNONI, L. I. Dual-species relations between *Candida tropicalis* isolated from apple juice ultrafiltration membranes, with *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* sp. **Journal of Applied Microbiology**, Malden, v. 118, n. 2, p. 431-442, 2015.

TEIXEIRA, L. V. Análise sensorial na indústria de alimentos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Minas Gerais, v. 64, n. 366, p. 12-21, 2009.

TASTAN, O.; BAYSAL, T. Clarification of pomegranate juice with chitosan: Changes on quality characteristics during storage. **Food Chemistry**, Oxford, v. 180, n. 1, p. 211-218, 2015.

TARIFA, M. C.; LOZANO, J. E.; BRUGNONI, L. I. Dual-species relations between *Candida tropicalis* isolated from apple juice ultrafiltration membranes, with *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* sp. **Journal of Applied Microbiology**, Malden, v. 118, n. 2, p. 431-442, 2015.

TEIXEIRA, R. M. **Uma abordagem do cenário geral de sucos industrializados no contexto da alimentação saudável**. 2007. 50 f. Monografia (Especialização em Tecnologia de Alimentos) – Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

TSERENNADMID, R.; TAKÓ, M.; GALGÓCZY, L.; PAPP, T.; PESTI, M.; VÁGOLGYI, C.; ALMÁSSY, K.; KRISCH, J. Antiyeast activities of some essential oils in growth medium, fruit juices, and milk. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 144, n. 3, p. 480-486, 2011.

TURINA, A. V.; NOLAN, M. V.; ZYGADLO, J. A.; PERILLO, M. A. Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. **Biophysical Chemistry**, Amsterdam, v. 122, n. 2, p. 101-113, 2006.

U. S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (USFDA). **Guide to minimize microbial food safety hazards of fresh fruits and vegetables**, 1998. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/ProduceandPlantProducts/UCM169112.pdf>>. Acesso em: 02 dez. 2019.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP. **Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO**. 4. ed. rev. e ampl. Campinas: UNICAMP/NEPA, 2011. 161 p. Disponível em: <http://www.nepa.unicamp.br/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf?arquivo=taco_4_versao_ampliada_e_revisada.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2012.

VARGAS, M., PASTOR, C., CHIRALT, A., MCCLEMENTS, D. J., GONZÁLEZMARTÍNEZ, C. Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v. 48, n. 6, p. 496-511, 2008.

WEISS, J.; TAKHISTOV, P.; MCCLEMENTS, J. Functional Materials in Food Nanotechnology. **Journal of Food Science**, Malden, v. 71, n. 9, p. 107-116, 2006.

YAMASHITA, F.; BENASSE, M. T.; TONZAR, A. C.; MORIYA, S.; FERNANDES, J. G. Produtos de acerola: estudo da estabilidade de vitamina C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 92-94, 2003.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa **“Sucos de frutas adicionados de nanoemulsões de quitosana e óleo essencial de laranja”**, que está sob a responsabilidade da pesquisadora Roberta Albuquerque Bento da Fonte. Comercial Candeias, 6337. Jaboatão dos Guararapes – PE. CEP 54450-080. Telefone: (81) 988316997. E-mail: robertabentonutricionista@hotmail.com. Também participam desta pesquisa os pesquisadores: Alana Pereira de Freitas. Rua Tancredo Neves, 7, Bela Vista. Vitória de Santo Antão – PE. CEP 55608-280. Telefone para contato: (81) 999095676. E-mail: alanapfreitas7@gmail.com. Michelle Galindo de Oliveira. Rua Gervásio Fioravante, 92, Apt 502, Graças. Recife – PE. CEP 52011-030. Telefone (81) 991994639. E-mail: michellegnutri@hotmail.com. Secineide Santana de Carvalho. Rua Maria Antonia de Oliveira (Lot. Militina). Vitória de Santo Antão – PE. CEP 55609-730. Telefone: (81) 987548227. E-mail: secicarvalho@hotmail.com. Todas as suas dúvidas podem ser esclarecidas com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e você concorde com a realização do estudo, pedimos que rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável. Você estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu, bem como será possível retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

O objetivo desta pesquisa é produzir sucos de frutas adicionados de nanoemulsões de óleo essencial de laranja e quitosana e verificar a influência da aplicação destes compostos naturais na qualidade sensorial de sucos de frutas naturais. Os dados serão coletados através de questionário e ficha contendo uma escala estruturada. Sua contribuição neste estudo consiste em analisar sensorialmente o produto oferecido e preencher a ficha com a escala estruturada, de acordo com sua disponibilidade a fim de obtermos informações necessárias para elaboração desta pesquisa. Será realizado o teste de aceitabilidade utilizando uma escala hedônica de nove pontos sendo avaliados os atributos aparência, odor, cor, sabor, textura e aceitação global. Paralelamente também será avaliada a intenção de compra. Para tanto, será empregada a escala hedônica de cinco pontos.

Riscos: Por ser um produto natural, não há riscos à saúde dos participantes. No entanto, pode trazer aos provadores algum desconforto em relação ao sabor ou causar incômodo a indivíduos que possuam restrição de alimentos ácidos, devido à acidez de alguns sucos de frutas. Para minimizar os riscos, durante o recrutamento será questionado se o participante possui restrição de alimentos ácidos e se possuir, será excluído da análise sensorial. Caso ocorra algum incômodo, encaminharemos para a unidade de saúde mais próxima: Hospital João Murilo de Oliveira, localizado na Avenida Henrique de Holanda, 87, Bairro Matriz. CEP 55602-000. Vitória de Santo Antão - PE. **Benefícios:** Os participantes terão o consumo de um produto natural e saudável. O projeto é relevante para a população por trazer a possibilidade de uso de um composto natural como alternativa ao uso de aditivos artificiais tradicionalmente utilizados em sucos, aumentando a qualidade de tais produtos sem prejudicar a saúde do consumidor e sua qualidade sensorial.

Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa ficarão armazenados em pastas de arquivo e computador pessoal, sob a responsabilidade da pesquisadora, no endereço acima informado, pelo período de mínimo 5 anos. Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação). Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Rua Dr. João Moura, 92 Bela Vista, Vitória de Santo Antão-PE, CEP: 55.612-440, Tel.: (81) 3114-4152– e-mail: cep.cav@ufpe.br).

(assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo **“Sucos de frutas adicionados de nanoemulsões de quitosana e óleo essencial de laranja”**, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pela pesquisadora sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Vitória de Santo Antão, _____ de _____ de _____.

Assinatura do participante: _____

Impressão
digital

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa

e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

APÊNDICE B – FICHA DE ANÁLISE SENSORIAL



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
NÚCLEO DE NUTRIÇÃO



Nome: _____ email: _____ Telefone: _____
Idade: () 18-25 () 25-35 () 35-45 () >45 () Professor () Aluno () Técnico () Funcionário () outro

Teste Pareado (Diferença/preferência) / intenção de compra

INSTRUÇÕES: - Você está recebendo 1 par de amostras, para ser avaliado. Coloque os códigos contidos do prato abaixo: Deguste cuidadosamente cada uma das amostras, e:

1. Marque um “X” se existe diferença entre elas.
2. Após este procedimento, caso tenha diferença, circule o código da amostra preferida.
3. Coloque os códigos e marque um “x” a sua intenção de compra para cada produto

Tem diferença entre elas? () Sim () Não CÓDIGOS _ _ _ _ _

INTENÇÃO DE COMPRA	CÓDIGOS	
CERTAMENTE COMPRARIA		
POSSIVELMENTE COMPRARIA		
TALVEZ COMPRASSE/TALVEZ NÃO		
POSSIVELMENTE NÃO COMPRARIA		
NÃO COMPRARIA		

Se colocou SIM, circule a preferida

Por favor, anote o código da amostra, prove-a da esquerda para direita e indique no espaço em branco o número referente à resposta que melhor reflita seu julgamento em relação a aceitação global do suco de acerola. Antes de cada avaliação, você deverá fazer uso da água e da bolacha.

1. Desgostei muitíssimo
2. Desgostei muito
3. Desgostei regularmente
4. Desgostei ligeiramente
5. Indiferente
6. Gostei ligeiramente
7. Gostei regularmente
8. Gostei muito
9. Gostei muitíssimo

Atributos	Amostras							
Aparência								
Odor								
Cor								
Sabor								
Textura								
Aceitação Global								

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UFPE - CENTRO ACADÊMICO
DE VITÓRIA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO - CAV/UFPE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: SUCOS DE FRUTAS ADICIONADOS DE NANOEMULSÕES DE QUITOSANA E ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA

Pesquisador: ROBERTA ALBUQUERQUE BENTO DA FONTE

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 19965819.6.0000.9430

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.593.264

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de pesquisa de conclusão de curso de graduação intitulado "Sucos de frutas adicionados de nanoemulsões de quitosana e óleo essencial de laranja", da pesquisadora responsável Roberta Albuquerque Bento da Fonte. Essa pesquisa tem por base um estudo experimental. Será conduzido no Laboratório de Técnica Dietética da Universidade Federal de Pernambuco, no Centro Acadêmico de Vitória (UFPECAV).

Para realização da pesquisa, pretende-se utilizar um painel de 100 provadores não treinados, sendo estes alunos, professores e funcionários da Universidade Federal de Pernambuco – Centro Acadêmico de Vitória. O recrutamento será por convocatória via e-mail e por avisos em redes sociais. Critério de inclusão – Ser estudante ou trabalhador (em geral) da UFPE/CAV; idade entre 18 a 60 anos; ter disponibilidade de tempo e ser consumidor de suco de frutas natural. • Critérios de exclusão – Ser fumante; apresentar alguma patologia nos órgãos do sentido que comprometa a análise sensorial; estar resfriado; apresentar restrição ao consumo de alimentos ácidos; não ter disponibilidade; estar fora da faixa etária estabelecida e não ser consumidor de suco de fruta natural.

A coleta de dados será feita através de ficha sensorial. Será utilizado óleo essencial de Laranja Doce (Citrus sinensis), e quitosana. As nanoemulsões serão realizadas através do método de inversão de fase de emulsão. Será misturado 71% de água, 10% de óleo essencial de Laranja Doce (Citrus

UFPE - CENTRO ACADÊMICO
DE VITÓRIA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO - CAV/UFPE



Continuação do Parecer: 3.593.264

sinensis), 10% de uma solução de quitosana (1% em ácido acético), 6% de Tween 80 e 3% de etanol. Testes com apenas óleo essencial de laranja doce, sem quitosana, serão usadas como controle. Serão preparados suco acerola, cajá e goiaba, obtidos a partir de frutas adquiridas na Feira Livre de Vitória de Santo Antão. Os sucos tratados serão analisados através do teste de aceitação, que avaliarão os atributos aparência, aroma, viscosidade, sabor e aceitação global, utilizando escala hedônica de 9 pontos. Será aplicado também teste pareado de diferença/preferência, sendo avaliada a preferência global do provador em relação ao suco de acerola controle e o adicionado de nanoemulsão de óleo essencial de laranja e quitosana. Será ainda, aplicado teste de intenção de compra, utilizando-se escala de 5 pontos.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Produzir sucos de frutas adicionados de nanoemulsões de óleo essencial de laranja e quitosana.

Objetivo Secundário:

- Preparar nanoemulsões de óleo essencial de laranja com quitosana;
- Elaborar sucos de frutas adicionados de nanoemulsão a base de quitosana;
- Realizar análise sensorial de sucos de frutas adicionados de nanoemulsões à base de óleo essencial de laranja e quitosana.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Por ser um produto natural, não há riscos à saúde dos participantes. No entanto, pode trazer aos provadores algum desconforto em relação ao sabor ou causar incômodo a indivíduos que possuam restrição de alimentos ácidos, devido à acidez de alguns sucos de frutas. Para minimizar os riscos, durante o recrutamento será questionado se o participante possui restrição de alimentos ácidos e se possuir, será excluído da análise sensorial. Caso ocorra algum incômodo, encaminharemos para a unidade de saúde mais próxima: Hospital João Murilo de Oliveira, localizado na Avenida Henrique de Holanda, 87, Bairro Matriz. CEP 55602-000. Vitória de Santo Antão - PE.

Benefícios: Os participantes terão o consumo de um produto natural e saudável. O projeto é relevante para a população por trazer a possibilidade de uso de um composto natural como alternativa ao uso de aditivos artificiais tradicionalmente utilizados em sucos, aumentando a qualidade de tais produtos sem prejudicar a saúde do consumidor e sua qualidade sensorial.

**UFPE - CENTRO ACADÊMICO
DE VITÓRIA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO - CAV/UFPE**



Continuação do Parecer: 3.593.264

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto apresentado apresenta um delineamento adequado, objetivos claros e metodologia definida para o seu desenvolvimento.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os documentos anexados pelo pesquisador na Plataforma Brasil estão adequados às normas da CONEP.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências foram atendidas pelo pesquisador responsável.

Considerações Finais a critério do CEP:

As exigências foram atendidas e o protocolo está APROVADO, sendo liberado para o início da coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio do Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

UFPE - CENTRO ACADÊMICO
DE VITÓRIA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO - CAV/UFPE



Continuação do Parecer: 3.593.264

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1423195.pdf	18/09/2019 11:32:33		Aceito
Outros	CARTA_DE_RESPOSTA_AS_PENDENCIAS.docx	18/09/2019 11:32:07	ROBERTA ALBUQUERQUE BENTO DA FONTE	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	SUCOS_DE_FRUTAS_ADICIONADOS_DE_QUITOSNA_E_OLEO_ESSENCIAL_DE_LARANJA.doc	18/09/2019 11:28:29	ROBERTA ALBUQUERQUE BENTO DA FONTE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEMaiores18.doc	18/09/2019 11:28:10	ROBERTA ALBUQUERQUE BENTO DA FONTE	Aceito
Outros	TermoConfidencialidade.jpg	30/08/2019 09:26:21	ROBERTA ALBUQUERQUE BENTO DA FONTE	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	28/08/2019 11:36:14	ROBERTA ALBUQUERQUE BENTO DA FONTE	Aceito
Outros	CartaAnuencia.jpg	27/08/2019 14:32:24	ROBERTA ALBUQUERQUE BENTO DA FONTE	Aceito
Outros	CurriculoLattesM.pdf	27/08/2019 14:29:54	ROBERTA ALBUQUERQUE BENTO DA FONTE	Aceito
Outros	CurriculosLattesA.pdf	27/08/2019 14:27:24	ROBERTA ALBUQUERQUE BENTO DA FONTE	Aceito
Outros	CurriculoLattesS.pdf	27/08/2019 14:24:57	ROBERTA ALBUQUERQUE BENTO DA FONTE	Aceito
Outros	CurriculoLattes.pdf	27/08/2019 14:20:09	ROBERTA ALBUQUERQUE BENTO DA FONTE	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não