



**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO HUMANA
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**EFEITOS DA PASTEURIZAÇÃO E DO ARMAZENAMENTO NA QUALIDADE
MICROBIOLÓGICA, NUTRICIONAL, FUNCIONAL E SENSORIAL DA POLPA DE
*PASSIFLORA SETACEA***

BEATRIZ ALEJANDRA ORTEGA SÁNCHEZ

**BRASÍLIA/DF
Dezembro/2020**



**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO HUMANA
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**EFEITOS DA PASTEURIZAÇÃO E DO ARMAZENAMENTO NA QUALIDADE
MICROBIOLÓGICA, NUTRICIONAL, FUNCIONAL E SENSORIAL DA POLPA DE
*PASSIFLORA SETACEA***

BEATRIZ ALEJANDRA ORTEGA SÁNCHEZ

Tese apresentada como requisito para obtenção do título de Doutora em Nutrição Humana Área de pesquisa: Alimentos, dietética e Bioquímica aplicada à Nutrição. pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília. Orientadora: Dra. Livia de Lacerda de Oliveira Co Orientadora: Dra. Sonia Celestino.

Brasília

2020

**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO HUMANA
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**EFEITOS DA PASTEURIZAÇÃO E DO ARMAZENAMENTO NA QUALIDADE
MICROBIOLÓGICA, NUTRICIONAL, FUNCIONAL E SENSORIAL DA POLPA DE
*PASSIFLORA SETACEA***

BEATRIZ ALEJANDRA ORTEGA SÁNCHEZ

Banca Examinadora

Profa. Dra. Livia de Lacerda de Oliveira,

PPGNH/UNB
Orientador

Prof. Dra. Elizama Aguiar de Oliveira,

DCET / UESC

Profa. Dra. Júnia Cápua de Lima,

PGF/UNB

Profa. Dra. Viviani Ruffo de Oliveira,

FAMED/ UFRGS

Brasília- DF, dezembro, 2020.

Ortega Sanchez, Beatriz Alejandra

Efeitos da pasteurização e do armazenamento na qualidade microbiológica, nutricional, funcional e sensorial da polpa de *Passiflora setacea*/ Beatriz Alejandra Ortega Sanchez
Tese de doutorado/Faculdade de Ciências da Saúde, Programa de Pós-graduação em
Nutrição Humana, Universidade de Brasília, Brasília, 2020.

Área de Concentração: Alimentos, dietética e Bioquímica aplicada à Nutrição.

Orientadora: Livia de Lacerda de Oliveira Pineli

1. *Passiflora setacea*
2. Processo térmico
3. Qualidade
4. Compostos bioativos
5. Sensorial
6. Armazenagem.

*Dedico este trabalho
ao meu esposo, Miguel e filho Luciano por
trazer muito amor e felicidade na minha vida.*

Agradecimentos

Manifesto meus agradecimentos primeiro a Deus pela sua proteção e bênçãos durante minha estância no Brasil.

Ao meu esposo Miguel Eduardo, que sempre foi o meu motivador para alcançar meus sonhos, ele sempre esteve comigo quando mais o precisei. Ao meu filho Luciano Ordoñez Ortega que apenas chegou e me faz muito forte e a mulher mais feliz.

Aos meus pais Betty e Armando, por ter me formado como uma pessoa do bem e pelo seu amor e ânimo durante esta jornada.

Aos meus irmãos Carol, Monica, Daniel, por ser meus amigos e sempre estar ao meu lado apesar da distância.

Aos meus sobrinhos José, Juanfe, Jerito e Sarita, por ter me alegrado minha vida quando mais o precisava.

Meus avós, tios e primos por sua companhia em todas as fases da minha vida;

À professora. Lívia de Lacerda, pela oportunidade de trabalhar no projeto, pelas suas orientações e apoio durante minha formação como doutora.

À professora. Sônia Celestino pelas suas orientações, pelos seus aportes muitos importantes no projeto, por seu apoio e acompanhamento durante a realização do projeto;

Ao professor. Ernandes de Alencar que desde o mestrado sempre esteve disposto para me ajudar entender alguns questionamentos do doutorado;

À Isadora Celestino que foi mais que uma TCC, foi uma amiga e sempre esteve disposta para trabalhar no laboratório até nos finais de semana e feriados, sem importar qualquer coisa.

Isabel minha amiga, que sempre foi minha companhia quando fiquei sozinha e foi comigo no laboratório sem importar o dia.

Desterro, Cinthya e Lorena por ser meu apoio na análise sensorial, foi um trabalho muito corrido e vocês sempre foram além de suas funções, também agradeço por ter me escutado durante todo este tempo.

A Ana do Laboratório de biologia molecular por ter me ajudado com os experimentos de ORAC e disponibilizado o espectrofotômetro.

Laboratório de LTMAC e Laboratório da Católica por dispor suas instalações e fazer possível a realização dos experimentos.

À Universidade de Brasília, ao programa de Nutrição Humana, aos professores do Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana; pela oportunidade e seus aprendizados;

CAPES pelo apoio financeiro durante meu curso de Doutorado.

EMBRAPA por ter fornecido material de trabalho, suas instalações e toda a disposição de seus colaboradores.

“Nossa recompensa está no esforço e não no resultado, um esforço total é uma vitória completa”

Mahatma Gandhi

RESUMO

O estudo dos ecossistemas e de suas espécies contribuem para a segurança alimentar e avanço nutricional. Dentre as plantas nativas do Cerrado brasileiro, destaca-se o maracujá. *Passiflora setacea* teve sua primeira variedade, BRS Pérola de Cerrado, lançada em 2013 pela Embrapa Cerrados, apresentando frutos com propriedades nutricionais e potencial para uso da polpa como alimento funcional. O desenvolvimento do processamento térmico é importante para manutenção da qualidade nutricional, funcional, microbiológica e sensorial da polpa de *P. setacea*, dada a sazonalidade dos frutos, fazendo possível seu consumo contínuo para promoção dos efeitos funcionais. O projeto foi conduzido em três etapas. Na primeira etapa, avaliou-se binômios de pasteurização rápida em 3 temperaturas (72, 77 e 82 °C) e 5 tempos (20, 40, 75 e 300 s) e um de pasteurização lenta (63 °C por 30 min). Na segunda etapa foi avaliado Efeitos dos tratamentos térmicos por meio dos binômios selecionados na primeira etapa sobre a redução da carga microbiana, as propriedades antioxidantes, as nutricionais e as sensoriais da polpa e na terceira etapa foi determinada a vida de prateleira por meio de teste acelerados. A polpa foi submetida a análises de atividade enzimática da pectinesterase, atividade antioxidante por DPPH, teor de compostos fenólicos totais e provas de sedimentação. Os tratamentos com maior tempo de 300 s nas temperaturas de pasteurização rápida apresentaram uma menor atividade enzimática remanescente (AER). Em relação à atividade antioxidante e teor de compostos fenólicos totais, a maior retenção dos compostos bioativos foi observada nos binômios menores de 72 °C e 77 °C por 20 s com AER de 80% e 70%, respectivamente. Portanto, para a segunda etapa, foram escolhidos os binômios de 82 °C por 20 s e 82 °C por 40 s uma vez que houve uma maior ação na atividade enzimática com valores de 60% e 50%, respectivamente. O binômio de pasteurização lenta foi também avaliado por ser menos oneroso e mais acessível aos agricultores. Nesta etapa determinou-se os efeitos dos binômios na cor, no teor de compostos fenólicos totais, na atividade antioxidante pelos métodos ORAC, FRAP, DPPH, nos teores vitamina C e amins bioativas; além da aceitabilidade e das características sensoriais determinadas pelo método *Check-All-that-Apply*. Na terceira etapa, foram usadas as polpas pasteurizadas no binômio de 82 °C /20 s, porque este binômio manteve as propriedades funcionais, nutricionais e sensoriais. A determinação da vida de prateleira foi realizada por meio de testes acelerados de vida de prateleira durante 12 dias nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C, acompanhando-se a qualidade microbiológica, a aceitação sensorial, o perfil de flavonoides, o teor de vitamina C e a atividade antioxidante pelos métodos de FRAP e ORAC. De acordo com

os resultados obtidos para a vida de prateleira, pode-se concluir que reduz os compostos bioativos, comparando as polpas *in natura* e polpa pasteurizada no dia 12. A redução da vitamina C foi de um 8,61%, isoorientina foi de 59,37%, orientina foi de 7,31%, vitexina de 35,50%, isovitexina de 57,24% e para epicatequina de 15,35%. Houve também uma diminuição de 97,44% e 20,75% na atividade antioxidante, pelos métodos ORAC e FRAP, respectivamente. O maior tempo de vida de prateleira estimado, com relação às análises sensoriais, foi de 184 dias, enquanto o menor valor estimado foi de 14 dias, quando considerado o teor de vitexina, portanto a estimativa de vida de prateleira de polpa pasteurizada armazenada em -15 °C foi de 14 dias, sendo este tempo onde se mantém o teor do flavonoide considerado um composto funcional.

ABSTRACT

The study of ecosystems and their species contributes to food security and nutritional improvement. Among the native plants of the Brazilian Cerrado, the passion fruit stands out. *Passiflora setacea* had its first variety, BRS Pérola de Cerrado, launched in 2013 by Embrapa Cerrados, presenting fruits with nutritional properties and potential for using the pulp as a functional food. The development of thermal processing is important for maintaining the nutritional, functional, microbiological, and sensory quality of the *P. setacea* pulp, given the seasonality of the fruits, making its continuous consumption possible to promote the functional effects. The project was carried out in three stages. In the first stage, binomials of rapid pasteurization at 3 temperatures (72, 77 and 82 ° C) and 5 times (20, 40, 75 and 300 s) and one of slow pasteurization (63 ° C for 30 min) were evaluated. In the second stage, the effects of heat treatments through the binomials selected in the first stage on the reduction of microbial load, the antioxidant, nutritional and sensory properties of the pulp were evaluated and in the third stage the shelf life was determined by means of accelerated tests. . The pulp was subjected to analysis of enzyme activity of pectinesterase, antioxidant activity by DPPH, content of total phenolic compounds and sedimentation tests. The treatments with a longer time of 300 s at fast pasteurization temperatures showed a lower remaining enzymatic activity (REA). Regarding the antioxidant activity and total phenolic compounds content, the greatest retention of bioactive compounds was observed in the binomials below 72 °C and 77 °C for 20 s with REA of 80 % and 70 %, respectively. The binomial of slow pasteurization was assessed for being less costly and more accessible to farmers. In this step, the effects of the binomials on color, on the content of total phenolic compounds, on the antioxidant activity by the ORAC, FRAP, DPPH methods, on the vitamin C and bioactive amines contents were determined; in addition to acceptability and sensory characteristics determined by the Check-All-that-Apply method. In the third stage, pasteurized pulps were used in the binomial of 82 ° C/20 s, because this binomial maintained the functional, nutritional, and sensory properties. The shelf life was determined by means of accelerated shelf life tests for 12 days at temperatures of 25, 35 and 45 ° C, followed by microbiological quality, sensory acceptance, flavonoid profile, content of vitamin C and antioxidant activity by FRAP and ORAC methods.. According to the results obtained for the shelf life, it can be concluded that it reduces bioactive compounds, comparing fresh pulps and pasteurized pulp on day 12. The reduction of vitamin C was 8.61 %, isoorientina was 59.37 %, orientin was 7.31 %, vitexin 35.50 %, isovitexin 57.24 % and for epicatechin

15.35 %. There was also a decrease of 97.44 % and 20.75 % in antioxidant activity, using the ORAC and FRAP methods, respectively. The longest estimated shelf life, in relation to sensory analysis, was 184 days, while the lowest estimated value was 14 days, when considering the vitexin content, therefore the estimated shelf life of pasteurized pulp stored at -15 ° C was 14 days, this time maintaining the content of the flavonoid considered a functional compound.

RESUMEN

El estudio de los ecosistemas y sus especies contribuye a la seguridad alimentaria y el desarrollo nutricional. Entre las plantas autóctonas del Cerrado brasileño se destaca el maracuyá. La *Passiflora setacea* tuvo su primera variedad, BRS Pérola de Cerrado, lanzada en 2013 por Embrapa Cerrados, presentando frutos con propiedades nutricionales y potencial para utilizar la pulpa como alimento funcional. El desarrollo del procesamiento térmico es importante para mantener la calidad nutricional, funcional, microbiológica y sensorial de la pulpa de *P. setacea*, dada la estacionalidad de los frutos, posibilitando su consumo continuo para promover los efectos funcionales. El proyecto se llevó a cabo en tres etapas. En la primera etapa se evaluaron binomios de pasteurización rápida en 3 temperaturas (72, 77 y 82 ° C) y 5 tiempos (20, 40, 75 y 300 s) y uno de pasteurización lenta (63 ° C por 30 min). En la segunda etapa se evaluaron los efectos de los tratamientos térmicos a través de los binomios seleccionados en la primera etapa sobre la reducción de la carga microbiana, propiedades antioxidantes, nutricionales y sensoriales de la pulpa y en la tercera etapa se determinó la vida útil mediante pruebas aceleradas. En la primera etapa la pulpa se sometió a análisis de actividad enzimática de pectinesterasa, actividad antioxidante por DPPH, contenido de compuestos fenólicos totales y pruebas de sedimentación. Los tratamientos con un tiempo mayor de 300 s a temperaturas de pasteurización rápida mostraron una menor actividad enzimática remanente (AER). En cuanto a la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos totales, la mayor retención de compuestos bioactivos se observó en los binomios por debajo de 72 ° C y 77 ° C durante 20 s con AER de 80 % y 70 %, respectivamente. Por tanto, para la segunda etapa se eligieron los binomios de 82 ° C durante 20 s y 82 ° C durante 40 s ya que hubo una mayor acción en la actividad enzimática con valores de 60 % y 50 %, respectivamente. El efecto del binomio de pasteurización lenta también fue evaluado, ya que es conocido por ser menos costoso y más accesible para los agricultores. En esta etapa se determinaron los efectos de los binomios sobre el color, sobre el contenido de compuestos fenólicos totales, sobre la actividad antioxidante por los métodos ORAC, FRAP, DPPH, sobre los niveles de vitamina C y aminos bioactivos; además de la aceptabilidad y las características sensoriales determinadas por el método *Check-All-that-Apply*. En la tercera etapa se utilizaron pulpas pasteurizadas en el binomio 82 ° C/20 s, debido a que este binomio mantuvo las propiedades funcionales, nutricionales y sensoriales. La vida útil se determinó mediante pruebas de vida útil acelerada durante 12 días a temperaturas de 25, 35 y 45 ° C, posteriormente fue determinada la calidad

microbiológica, aceptación sensorial, perfil de flavonoides, contenido de vitamina C y actividad antioxidante por los métodos FRAP y ORAC. De acuerdo con los resultados obtenidos para la vida útil, se puede concluir que hubo reducción de los compuestos bioactivos al ser comparadas con las pulpas frescas y pulpa pasteurizada en el día 12. La reducción de vitamina C fue de 8,61 %, isoorientina fue 59,37 %, orientina 7,31 %, vitexina 35,50 %, isovitexina 57,24 % y epicatequina 15,35 %. También hubo una disminución de 97,44 % y 20,75 % en la actividad antioxidante, utilizando los métodos ORAC y FRAP, respectivamente. La vida útil estimada más larga, con relación al análisis sensorial, fue de 184 días, mientras que el valor estimado más bajo fue de 14 días, al considerar el contenido de vitexina, por lo que la vida útil estimada de la pulpa pasteurizada almacenada a $-15\text{ La }^{\circ}\text{C}$ fue de 14 días, debido que en este tiempo se mantiene el contenido de este flavonoide, el cual es considerado un compuesto funcional.

LISTA DE FIGURAS

PARTE 1

CAPÍTULO 1

- Figura 1. Aspectos visuais dos frutos do maracujá BRS Pérola do Cerrado (*Passiflora setacea*). 30
- Figura 2. Estresse oxidativo metabólico e doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). 32
- Figura 3. Mecanismo de transferência de um átomo de H de um antioxidante e oxidação 34
- Figura 4. Transferência de elétron de um antioxidante 34
- Figura 5. Estados de oxidação do ácido ascórbico 35
- Figura 6. Fluxograma de obtenção de polpa de fruta congelada. 42
- Figura 7. Número de sobreviventes (N) em função do tempo de processo (t) a uma temperatura da constante, indicando o valor de $D = 16,5 \text{ min}$ ($49,1 - 32,6$) relativo ao tempo necessário para uma redução de 90 % da população, nessa temperatura. 43
- Figura 8. Estrutura molecular de pectinas (ácido D-galacturônico) 44
- Figura 9. Precipitação de pectina de baixo grau de metoxilação 45

CAPÍTULO 2

- Figura 1. Fluxograma de obtenção da polpa de *P. setacea*. 77
- Figura 2. Sistema de pasteurização rápida com três estágios 79

PARTE 2

CAPÍTULO 1

- Figura 1. Testes de sedimentação: a) *in natura*; b) $72^\circ\text{C} / 20 \text{ s}$, c) $72^\circ\text{C} / 40 \text{ s}$, d) $82^\circ\text{C} / 20 \text{ s}$, e) $82^\circ\text{C} / 40 \text{ s}$, f) $63^\circ\text{C} / 30 \text{ min}$. 96
- Figura 2. Análise de componentes principais de polpas de *Passiflora setacea* em diferentes condições de processamento. 103

LISTA DE TABELAS

PARTE 1

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Características físico-químicas da polpa de diferentes espécies de maracujá	31
Tabela 2. Classificação dos compostos fenólicos em plantas.	36
Tabela 3. Compostos funcionais da <i>Passiflora setacea</i> em diferentes sistemas de condução em diferentes épocas do ano.	38
Tabela 4. Classificação das aminas	39
Tabela 5. Estudos realizados para avaliação do efeito de processos térmicos e armazenamento nos compostos bioativos em alimentos.	46

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Adubação de plantio de <i>Passiflora setacea</i> .	76
Tabela 2. Temperatura do banho de óleo e a correspondente temperatura da polpa na saída do estágio de aquecimento	80
Tabela 3. Comprimento do <i>chiller</i> , vazão na saída do chiller, temperatura de pasteurização e tempo de pasteurização no estágio de manutenção de temperatura	80

PARTE 2

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Equações de regressão ajustadas e respectivos coeficientes de determinação para EC ₅₀ , mg / L), teor de compostos fenólicos totais (mg / 100 g) e AER (%) em polpa de <i>P. setacea</i> submetida a HTST nas temperaturas de 72 e 82 °C, para 0, 20, 40, 75 e 300 s.	94
Tabela 2. Valores estimados para atividade antioxidante total, teor de compostos fenólicos totais (mg / 100g) e atividade enzimática remanescente (AER %) em polpa de <i>Passiflora setacea</i> submetida a HTST nas temperaturas de 72 e 82 °C, para 20, 40, 75 e 300 s.	95
Tabela 3. Contagens de bolores e leveduras, mesófilos aeróbios, coliformes totais, coliformes termotolerantes e <i>Salmonella</i> spp. para polpa <i>in natura</i> e pasteurizada de <i>P. setacea</i> nos três binômios tempo / temperatura selecionados	97
Tabela 4. Cor, teor de vitamina C, teor de compostos fenólicos totais (TCF), atividade antioxidante, flavonoides e amina bioativa para polpa natural e pasteurizada <i>P. setacea</i> nos três binômios tempo / temperatura selecionados	101

Tabela 5. Testes Q de Cochran para cada atributo e aceitação em polpa pasteurizada e *in natura* de *Passiflora setacea*. 105

CAPÍTULO 2.

Tabela 1. Modelos de cinéticos de reação e respectivas equações integradas e linearizadas 116

Tabela 2. Análises microbiológicas em polpa de *Passiflora setacea in natura* submetida a condições aceleradas nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C, por 12 dias 118

Tabela 3. Análises microbiológicas em polpa de *Passiflora setacea* pasteurizada no binômio 82 °C submetida a condições aceleradas nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C, por 12 dias 119

Tabela 4. Valores médios referentes ao perfil de flavonoides, teor de vitamina C e atividade antioxidante na polpa *in natura* de *Passiflora setacea* submetida a testes acelerados nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C, por 12 dias 122

Tabela 5. Valores médios referentes ao perfil de flavonoides, teor de vitamina C e atividade antioxidante na polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* submetida a testes acelerados nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C, por 12 dias 124

Tabela 6. Aceitação global da polpa de *Passiflora setacea* pasteurizada submetida a testes acelerados nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C, por 12 dias 127

Tabela 7. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para o teor de isoorientina de polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x) 128

Tabela 8. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para o teor de orientina de polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x) 129

Tabela 9. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para o teor de vitexina de polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x) 129

Tabela 10. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para o teor de isovitexina de polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x) 130

Tabela 11. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para o teor de epicatequina de polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x) 130

Tabela 12. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para o teor de vitamina C de polpa pasteurizada de <i>Passiflora setacea</i> armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x)	131
Tabela 13. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para a atividade antioxidante pelo método FRAP de polpa pasteurizada de <i>Passiflora setacea</i> armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x)	131
Tabela 14. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para a atividade antioxidante pelo método ORAC de polpa pasteurizada de <i>Passiflora setacea</i> armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x)	132
Tabela 15. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para a aceitação de polpa pasteurizada de <i>Passiflora setacea</i> armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x)	132
Tabela 16. Energia de ativação (E_a , cal mol ⁻¹) das diferentes variáveis dos grupos i, ii e iii referentes à polpa pasteurizada de <i>P. setacea</i> submetida a testes acelerados	133
Tabela 17. Estimativa de vida de prateleira da polpa pasteurizada de <i>Passiflora setacea</i> em diferentes temperaturas.	134

LISTA DE ABREVIATURAS

AA – Ácido ascórbico

AAPH – *2,2'-Azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride*

C - Concentração do componente ou nota de um atributo

Co - Concentração inicial do componente

C - Concentração final do componente

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DAD – Detector de arranjo de diodos

DHA – Ácido Dehidroascórbico

DTA – Doenças Transmitidas por Alimentos

EDTA – *Ethylenediamine tetraacetic acid*

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

ET - Equivalentes Trolox

FRAP – *Ferric Reducing Antioxidant Power*

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*

HTST – *High Temperature and Short Time*

IFST – *Institute of Food Science & Technology*

IN – Instrução Normativa

Kcal – Kilo caloria

Ln – Logaritmo natural

LTLT – *Low Temperature and Long Time*

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

ORAC – *Oxygen Radical Absorbance Capacity*

P. – *Passiflora*

r - Velocidade de reação.

TAVP – Testes Acelerados de Vida-de-prateleira

t - Tempo de reação

UFC – Unidades Formadoras de Colônia

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. Análise de Vitamina C	142
ANEXO 2. Análise de Fenólicos Totais	146
ANEXO 3. - Análise da atividade antioxidante total por DPPH	148
ANEXO 4. Análise de atividade antioxidante total por FRAP	150
ANEXO 5. Quantificação de flavonoides por HPLC/CLAE	153
ANEXO 6. Termo de consentimento livre e esclarecido- TCLE	156
ANEXO 7. Ficha de recrutamento	158
ANEXO 8. Ficha repertory GRID	160
ANEXO 9. Escala hedônica e CATA	161
ANEXO 10. Aceitação global	162

SUMÁRIO

Lista de Figuras	xiv
Lista de Tabelas	xv
Lista de Abreviaturas	xviii
Lista de Anexos	xx
INTRODUÇÃO	24
Parte 1 - Caracterização do problema da pesquisa e dos métodos de investigação	27
Capítulo 1 -Revisão Bibliográfica	28
1.1. Gênero <i>Passiflora</i>	28
1.1.1. Cultivo de <i>Passiflora setacea</i>	29
1.2. Propriedades funcionais do maracujá	31
1.2.1. Antioxidantes	32
1.2.2 Mecanismo de ação dos antioxidantes	33
1.3 Vitamina C	34
1.4 Compostos Fenólicos	35
1.5 Aminoácidos Bioativos	38
1.5.1 Aminoácidos bioativos em frutas	39
1.6 Uso Industrial do maracujá	41
1.6.1 Elaboração de polpa de frutas	41
1.7 Tratamento Térmico	42
1.8 Pectina	43
1.8.1 A Pectinesterase	44
1.9 Efeito do processamento e do armazenamento nos compostos bioativos	45
1.10 Vida de Prateleira	56
1.10.1 Teste acelerado de vida de prateleira (TAVP)	57
1.11 Análise sensorial dos alimentos	61
1.11.1 Método sensorial descritivo	62
1.11.2 Método sensorial afetivo	63
REFERÊNCIAS	64
Capítulo 2 - Hipótese, objetivos, material e método de pesquisa	75
2.1 Hipótese da pesquisa	75
2.2 Objetivos	75

2.2.1	Objetivos Geral	75
2.2.2	Objetivos Específicos	75
2.3	Materiais e Métodos	75
2.3.1.	Etapa 1: pasteurização da polpa de <i>P. setacea</i> , determinação da atividade antioxidante, do teor de fenólicos totais, da inativação da pectinesterase, da estabilidade física e seleção dos melhores binômios.	77
2.3.2	Etapa 2: efeito do processo térmico nas propriedades nutricionais, antioxidantes e sensoriais da polpa de <i>Passiflora setacea</i> .	78
2.3.3	Etapa 3: determinação da vida de prateleira do suco de <i>P. setacea</i> submetido ao processo de pasteurização.	78
2.3.4	Pasteurização da polpa	79
2.3.5	Atividade Antioxidante	81
2.3.6	Determinação de compostos fenólicos totais	82
2.3.7	Atividade Enzimática	83
2.3.8	Estabilidade Física	83
2.4.	Etapa 2: Efeitos dos tratamentos térmicos por meio dos binômios selecionados na primeira etapa sobre a redução da carga microbiana, as propriedades antioxidantes, as nutricionais e as sensoriais da polpa	83
2.4.1.	Determinação de carga microbiana no suco de <i>Passiflora setacea</i> pasteurizada para verificação de redução de carga microbiana	84
2.4.2.	Determinação do efeito do processo térmico nas propriedades nutricionais, antioxidantes e sensoriais da polpa de <i>Passiflora setacea</i> .	85
2.4.3	Análises de Compostos Antioxidantes	86
2.4.4	Monitoramento da atividade antioxidante	86
2.4.5	Determinação de Vitamina C total	87
2.4.6	Determinação Perfil de Aminas Bioativas	87
2.4.7	Análise Sensorial	88
2.5	Etapa 3: Determinação da vida de prateleira por meio de testes acelerados	89
2.5.1	Análise Sensorial	89
2.6	Delineamento experimental	89
	REFERÊNCIAS	91
	Parte 2 - Resultados e Discussão	93

Capítulo 1. Pasteurização de polpa de <i>Passiflora setacea</i> e efeitos nos compostos bioativos.	94
1.1 Resultados e Discussão	94
1.2 Conclusão	107
REFERENCIAS	108
Capítulo 2. Estimativa da vida de prateleira de polpa pasteurizada de <i>Passiflora setacea</i> por meio de testes acelerados e efeitos na qualidade	110
1. Introdução	110
2. Materiais e Métodos	112
2.1. Obtenção de polpa de <i>Passiflora setacea</i>	112
2.2. Análise da qualidade da polpa de <i>Passiflora setacea</i> durante o armazenamento nos testes acelerados	113
2.2.1. Análises Microbiológicas	113
2.2.2. Perfil de Flavonoides	113
2.2.3. Vitamina C	114
2.2.4. Atividade Antioxidante	114
2.2.5 Análise Sensorial	115
2.3. Estimativa da vida de prateleira da polpa pasteurizada de <i>Passiflora setacea</i> a partir de testes acelerados	115
2.4 Delineamento experimental e análise estatística	117
3. Resultados e Discussão	117
3.1. Qualidade microbiológica de polpas <i>in natura</i> e pasteurizada de <i>P. setacea</i> submetidas a testes acelerados	117
3.2. Perfil de Flavonoides, Teor de Vitamina C e Atividade Antioxidante de Polpas <i>in natura</i> e pasteurizada de <i>P. setacea</i> submetidas a testes acelerados	120
3.3. Estimativa da vida de prateleira da polpa pasteurizada de <i>P. setacea</i> a partir de testes acelerados	128
4. Conclusão	136
REFERÊNCIAS	137
Conclusões Gerais	140
ANEXOS	141
APÊNDICE	163

INTRODUÇÃO

O gênero botânico *Passiflora* apresenta grande diversidade de espécies e variedades. Acredita-se que existam mais de 400 espécies encontradas naturalmente em toda América Tropical, das quais aproximadamente 150 ocorrem no Brasil e 70 produzem frutos comestíveis (FALEIRO et al., 2005).

Passiflora setacea, nativa dos Cerrados brasileiros, apresenta grande potencial para consumo *in natura* em virtude do aroma agradável e gosto adocicado dos frutos. Segundo o conhecimento popular, folhas e frutos desta planta apresentariam também propriedades tranquilizantes, o que deu origem ao nome comum da espécie “maracujá do sono” (VIEIRA, 2010). O fruto é considerado uma importante fonte de antioxidantes e compostos bioativos, fato comprovado por estudos realizados pela Embrapa Cerrados e parceiros da Rede Passitec - Desenvolvimento Tecnológico para Uso Funcional de *Passifloras* Silvestres. Observou-se que o consumo diário de 100 g da polpa de *P. setacea* poderia suprir as necessidades de vitamina C do indivíduo (COSTA et al., 2008). Em relação aos compostos fenólicos, aproximadamente 20 estruturas foram encontradas nas polpas das *Passifloras*, como a luteolina, vincenina, isoorientina, vitexina, kaempferol e derivados, além de ácidos fenólicos como cafeico, cumárico, elágico e gálico. Bomtempo (2011) encontrou aminas bioativas em *P. setacea*, como espermina, espermidina e putrescina, esta última em maior proporção. As poliaminas como espermidina e espermina estão envolvidas no crescimento, renovação e metabolismo de células (BARDOCZ et al., 1993). A presença destes compostos no fruto confere propriedades funcionais, dentre elas o controle de alterações nervosas, efeito antibiótico, hipotensor e contra ansiedade, a atividade anticonvulsivante e, principalmente, antioxidante (COSTA, TUPINAMBÁ, 2005).

Bomtempo (2011) determinaram perfil e os teores de aminas bioativas em diferentes espécies de *Passifloras* do cerrado, sendo que as aminas espermina, espermidina e putrescina foram encontradas em 100% nas amostras de todas as espécies analisadas. Em *P. setacea*, o teor total de aminas bioativas foi de 11,11 mg/100g, das quais 50% era a agmatina, 50% de triptamina e 59% da amina putrescina, sendo esta a amina predominante.

Costa et al. (2008) determinaram os teores de compostos fenólicos totais das coleções CN, CV e NA de *P. setacea* da Embrapa Cerrados e identificaram variabilidade genética dentro e entre coleções. Os autores encontraram na polpa fresca valores médios na faixa de 50,64 (A4CN) a 77,62 mg/100g (CV2) de compostos fenólicos. Os valores foram elevados quando

comparados aos do maracujá azedo comercial *P. edulis* ($20,0 \pm 2,6$ mg/100g), do cupuaçu ($20,5 \pm 3,0$ mg/100g) e do abacaxi ($21,7 \pm 4,5$ mg/100g).

Nesse contexto, pode-se dizer que *P. setacea* tem um alto potencial para ser usada na indústria dos sucos, porque apresenta uma diversidade de propriedades funcionais e nutricionais importantes e alto conteúdo de sólidos solúveis e alta acidez. Portanto, faz-se necessária a geração simultânea de tecnologias e informações em várias áreas do conhecimento para subsidiar todos os elos da cadeia produtiva e desta forma potencializar o uso da biodiversidade brasileira na indústria de alimentos e geração de novos produtos com o fim de favorecer o consumo e sua disponibilidade para a população urbana.

O processamento de alimentos promove o prolongamento da vida útil, podendo torná-los mais atraentes ao paladar. Entretanto, pode alterar a composição dos alimentos e interferir nas interações entre os constituintes dos alimentos. Assim, o processamento pode ter um impacto positivo, como a redução ou eliminação de micro-organismos indesejáveis, inativação de enzimas ou de fatores antinutricionais, ou um impacto negativo, no que se refere às perdas de nutrientes e das propriedades sensoriais da matéria-prima original (CORREIA et al, 2008).

Um aspecto que confere qualidade aos sucos de frutas ácidas é a presença de turbidez. A turbidez é uma mistura de partículas em suspensão contendo lipídios, proteínas, pectina, celulose e hemicelulose, que resultam da ruptura das células das frutas durante a extração. A pectina é normalmente referida como o componente que naturalmente estabiliza a turbidez dos sucos, pois agindo como estabilizante, ajuda a manter a suspensão, proporcionando a turbidez. (CORRÊA NETO; FARIA, 1999). A desestabilização de pectina que se encontra na polpa causa a diminuição da viscosidade, provocando a separação de fases no produto e prejudicando assim sua qualidade (VERSTEEG et al., 1980; KIMBALL, 1991, CORRÊA NETO; FARIA, 1999).

No suco fresco ou sub pasteurizado, a pectina se precipita devido à ação da enzima pectinesterase produzindo metanol e pectina de baixa metoxilação. Portanto, ocorre a precipitação da pectina por íons de cálcio resultando na perda de turbidez, afetando a aparência, o sabor e o aroma do suco, além de favorecer a oxidação (VERSTEEG et al., 1980).

Segundo Versteeg et al. (1980) a pectinesterase do suco de frutas ácidas é mais termicamente resistente do que os micro-organismos deterioradores existentes e que a peroxidase que é responsável por alterações no sabor e aroma. Portanto, a sua inativação é utilizada como parâmetro para se definir o tempo e a temperatura do processo térmico ao qual o suco deve ser submetido (BADOLATO, 2000). Entretanto, o efeito do processamento sobre

a retenção de compostos bioativos é pouco conhecido e ainda não foi avaliado no que se refere a *P. setacea*.

Apesar de diversos estudos atuarem na caracterização das *Passifloras*, não há estudos que avaliem a aptidão tecnológica das polpas de *P. setacea* para a pasteurização. A presente proposta é um primeiro estudo sobre os impactos nutricionais, funcionais e sensoriais dos tipos de pasteurização e os efeitos do armazenamento sobre a polpa de uma *Passiflora* silvestre e poderá trazer informações relevantes sobre a viabilidade de se usar essa matéria-prima para gerar um alimento industrializado saudável e satisfatório para o consumidor, agregando valor à biodiversidade brasileira.

PARTE 1 - CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA DA PESQUISA E DOS MÉTODOS DE INVESTIGAÇÃO

Na Parte 1 são apresentados os capítulos de revisão bibliográfica e no capítulo 2 os materiais e métodos utilizados no projeto.

No Capítulo 1 são apresentadas informações com o fim de contextualizar o material e estudo e o que se encontra na literatura em relação ao tema: o gênero *Passiflora*, cultivo de *Passiflora setacea*, propriedades funcionais do maracujá, antioxidantes, vitamina C, compostos fenólicos, amins bioativas, uso industrial do maracujá, elaboração de polpa de frutas, tratamento térmico, vida de prateleira e a aplicação de análises sensorial em alimentos.

No Capítulo 2, apresenta-se a hipótese do problema de pesquisa e os objetivos do trabalho. Também são descritos os procedimentos de montagem dos experimentos, os métodos de análises físicas, microbiológicas, químicas e sensoriais e os procedimentos de análise estatística dos resultados.

CAPÍTULO 1 -REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. Gênero *Passiflora*

O gênero *Passiflora*, popularmente nomeado como maracujá, pertence à família Passifloraceae, existindo aproximadamente 530 espécies e podem se encontrar principalmente na América Tropical, devido à sua diversidade genética. O maracujá é também conhecido como flor da paixão, devido à sua origem mística, dada à semelhança da flor com os símbolos da paixão de Jesus Cristo. Nos países de língua inglesa, o maracujá é conhecido por '*passion fruit*' (SILVA e SILVA-ALMEIDA, 2000). Maracujá é uma planta trepadeira, com caule lenhoso e circular, e à medida que se aproxima do ápice perde sua consistência. As raízes têm um sistema radicular totalmente ramificado, sem raiz principal, superficial, distribuídos em 90% nos primeiros 0,15 a 0,45 m de profundidade, 68 % das raízes estão a uma distância de 0,60 m do tronco, fator que deve ser considerado ao momento da fertilização e irrigação (CENTA, 2002).

As flores são hermafroditas, compostas por três sépalos branco-esverdeados, cinco pétalas brancas e uma coroa feita por um conjunto de filamentos que se irradiam para fora cuja base é de cor roxa. Estes filamentos têm a função de atrair insetos polinizadores. O órgão masculino, *androceo*, é formado por cinco estambres grandes com anteras, que contém os grãos de pólen amarelos e pesados, o que torna difícil a polinização pelo vento, já que a estrutura fêmea (*gineceo*) está localizado acima dos estambres (CENTA, 2002).

Os frutos são globosos ou ovoides, com um comprimento de 5 a 6 cm e 4 a 5 de largura e peso aproximado de 50 a 120 g. A casca é verde-amarela, dura, lisa, cerosa e o fruto atinge a maturidade após 60 - 70 dias de ser polinizado. É classificado como não-climatério. As sementes são negras e estão cobertas de arilo carnosos contendo suco aromático. Cada semente representa um ovário fecundado por um grão de pólen, de modo que o número de sementes, o peso do fruto e a produção de suco estão correlacionadas com o número de grãos de pólen depositados no estigma. Este número não deve ser inferior a 190 grãos. Também contém 20 - 25% de óleo. Em condições ambientais, as sementes mantêm sua viabilidade por 3 meses e refrigerado por até 12 meses (CENTA, 2002).

O início do plantio comercial no Brasil ocorreu a partir da década de 1970, com a espécie *P. edulis Sims f. flavicarpa*. Encontram-se mais de 150 espécies de *passiflora* no país (CUNHA e BARBOSA, 2002). Entre as várias espécies silvestres no Brasil, algumas apresentam

características interessantes como alto conteúdo de sólidos solúveis e alta acidez, para o mercado de fruta *in natura* e/ou para processamento na forma de sucos ou outro tipo de alimento. Além disso, a tradição popular atribui às espécies da família Passifloraceae propriedades farmacológicas, como sedativas, diuréticas, analgésicas, vermífugas, antitumorais, além de serem recomendadas no tratamento de dependência química, obesidade e, principalmente, no controle da ansiedade e distúrbios nervosos (DHAWAN et al., 2004; COSTA, TUPINAMBÁ, 2005).

As espécies mais cultivadas no país são *P. edulis f. flavicarpa* (maracujá amarelo) e *P. edulis* (maracujá-roxo) (CEPLAC, 2014). Entretanto, o interesse por explorar espécies silvestres, como *P. alata* e *P. setacea*, aumentou devido à sua importância sobre características nutricionais, antioxidantes, sensoriais, medicinais e ornamentais (COHEN et al., 2008; PINELI et al., 2014; OZAROWSKI & THIEM, 2013).

1.1.1. Cultivo de *Passiflora setacea*

P. setacea é uma espécie silvestre de maracujazeiro que ocorre nos biomas do Cerrado e Caatinga e em áreas de transição como o semiárido e o norte-mineiro (OLIVEIRA, RUGGIERO, 2005). Também é uma espécie encontrada em ambientes com alta incidência solar, sendo muito comum nas florestas primárias assim como em capoeiras, capoeirões e restinga litorânea. No Distrito Federal, floresce e frutifica no período de dias curtos do ano e a colheita é de agosto a outubro, época de entressafra do maracujazeiro comercial (OLIVEIRA E RUGGIERO, 2005; BRAGA et al., 2006, FALEIRO et al. 2005).

Passiflora setacea do Cerrado é uma das espécies brasileiras de maracujás silvestres, popularmente conhecida como sururuca, maracujá de cobra e maracujá-do-sono, pois a polpa dos frutos, segundo o uso comum, ajudaria a prevenir problemas de insônia. O maracujá BRS Pérola do Cerrado é uma cultivar obtida do melhoramento genético da espécie *P. setacea* lançada pela Embrapa e por parceiros em 2013 (EMBRAPA, 2013).

Os frutos são globosos ou levemente alongados, com casca de coloração verde-claro a amarelo-claro (Figura 1) e peso variando de 50 a 120 g. Em relação aos seus parentais silvestres, o BRS Pérola do Cerrado apresenta frutos maiores e maior produtividade. Sua polpa também possui maiores teores de antioxidantes, portanto seu consumo pode trazer benefícios para a saúde (GUIMARÃES et al., 2013).

Figura 1. Aspectos visuais dos frutos do maracujá BRS Pérola do Cerrado (*Passiflora setacea*).



Fonte: Guimarães et al., 2013.

O maracujá Pérola é bastante produtivo e, em sistemas bem manejados, o florescimento se inicia aos 60 dias após o plantio. O BRS Pérola do Cerrado frutifica nas condições de outono-inverno no Brasil Central, possibilitando aos passicultores a produção de frutos na entressafra do maracujá azedo (GUIMARÃES *et al.*, 2013).

Santos et al. (2005), analisando as características físico-químicas do fruto do maracujazeiro-do-sono, na região de Planaltina, DF, encontraram valores médios de comprimento de $53,8 \pm 0,2$ mm, diâmetro de $43,0 \pm 0,2$ mm, índice de conformidade de $1,25 \pm 0,2$, peso de $47,26 \pm 5,92$ g, rendimento de polpa de 53,6%, peso de 1000 sementes $15,1 \text{ g} \pm 0,3$ e número de sementes de 205 ± 65 .

A Embrapa Cerrados, localizada em Brasília, possui uma coleção com mais de 150 acessos de *Passifloras*, no qual se destaca a *Passiflora setacea*, conhecida pelas propriedades calmantes e soníferas dos frutos e folhas. Encontram-se diferentes coleções da *Passiflora setacea* CV (acessos CV1 e CV2); CN (acessos A1CN, A2CN, A3CN, A4CN) e da coleção NA: (acessos A1NA e A3NA). As coleções CV e CN são resultantes dos cruzamentos e seleções voltadas para o aumento no tamanho de frutos do programa de melhoramento genético desta espécie (COSTA et al., 2008).

COSTA et al. (2008) determinaram os teores de compostos fenólicos totais e de vitamina C das coleções do BRS pérola do cerrado e identificaram variabilidade. Esses autores encontraram na polpa fresca valores médios na faixa de 50,64 (A4CN) a 77,62 mg/100g (CV2) de compostos fenólicos. Os valores foram maiores quando comparados aos de *P. edulis* ($20,0 \pm 2,6$ mg/100g), cupuaçu ($20,5 \pm 3,0$ mg/100g) e abacaxi ($21,7 \pm 4,5$ mg/100g) (KUSKOSKI et al., 2006). Em relação aos teores de vitamina C, obtiveram-se valores de 47,51 (A3NA) a

74,62 mg/100g (A1CN), o que em média é três vezes superior ao descrito para o maracujá comercial, *P. edulis*, *f. flavicarpa*, cuja faixa é de 20 mg/100g (NEPA, 2004).

Portanto, o consumo diário de 100 g ou menos da polpa do acesso A1CN poderia suprir as necessidades de vitamina C do indivíduo, o que sugere que *P. setacea* tem potencial como fonte de vitamina C.

De acordo com Costa (2008) a polpa de *P. setacea* apresenta pH de 3,32, acidez titulável (AT) de 2,49%, relação SS/AT de 6,52, ácido ascórbico de 56,46 mg/100 mL e teor de sólidos solúveis (SS) de 14,00 °Brix. Tais características físico-químicas sugerem a aptidão industrial da *P. setacea* para o processamento de sucos, dada a preferência por frutos de alto rendimento em suco e com maior teor de sólidos solúveis (COSTA, 2008). Os altos teores de ácidos no suco revelam uma característica importante no que diz respeito ao processamento, pois é interessante que os frutos possuam elevada acidez, visto que isso diminuiria a adição de acidificantes (NASCIMENTO, 1996). Na Tabela 1, apresentam-se as características físico-químicas de diferentes espécies de Maracujá.

Tabela 1. Características físico-químicas da polpa de diferentes espécies de maracujá

<i>Passiflora</i> / Espécie	pH	Acidez (% ác. Cítrico)	Sólidos Solúveis (° Brix)
<i>P. setacea</i> ⁽¹⁾	3,15	2,67	16,4
<i>P. alata Dryand</i> ⁽²⁾	2,90	4,15	13,7
<i>P. edulis f. flavicarpa</i> ⁽³⁾	2,91	3,24	14,5
<i>P. edulis Sims</i> ⁽⁴⁾	3,23	2,26	15,1

FONTE: (1) Campos (2010). (2) Santiago-Silva et al. (2011); (3) Santos et al. (2005), (4) Medeiros et al. (2005).

1.2. Propriedades funcionais do maracujá

Um alimento funcional é considerado como aquele que contém substâncias que podem favorecer a saúde e diminuir o risco de uma doença, além de possuir as funções nutricionais básicas. Para que o alimento seja considerado funcional deve ser demonstrado que este contribui positivamente para os processos metabólicos e fisiológicos no corpo (ROBERFROID, 2002).

O maracujá, por seu conteúdo em carotenoides, vitamina C, compostos fenólicos e poliaminas, pode ser considerado um alimento funcional, desde que seus efeitos fisiológicos

sejam comprovados cientificamente. Duarte et al, (2020) encontraram uma diminuição no nível de insulina e um acréscimo da lipoproteína de alta densidade após do consumo de suco de *P. setacea*, com os resultados obtidos determinaram que o consumo de suco pode contribuir na prevenção de doenças cardiometabólicas.

1.2.1. Antioxidantes

O estresse oxidativo é gerado pela formação de radicais livres (Figura 2), os quais são considerados um fator de risco para a saúde, devido que reagem com os lipídeos, as proteínas e com o ácido desoxirribonucleico (DNA) das células, originando assim doenças crônicas não transmissíveis, como a aterosclerose, o câncer, a degeneração do sistema nervoso central (SNC), além de doenças imunológicas e o envelhecimento (SANDOVAL, 2005).

O corpo humano pode controlar a produção de radicais livres por dois mecanismos diferentes: o primeiro é a produção de antioxidantes naturalmente (antioxidantes endógenos) e a segunda forma é obter os antioxidantes pelo o consumo de alguns alimentos (antioxidantes exógenos) (PHAM-HUY et al., 2008).

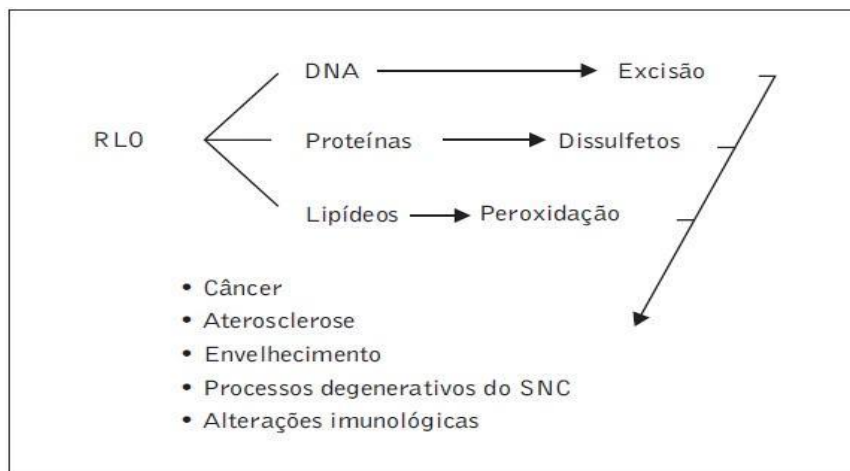


Figura 2. Estresse oxidativo metabólico e doenças crônicas não transmissíveis (DCNT).

Fonte: Sandoval (2005).

Antioxidantes endógenos podem ser enzimáticos ou não enzimáticos (PHAM-HUY et al., 2008). O mecanismo de controle dos antioxidantes enzimáticos é a neutralização de radicais livres, dentre as principais enzimas encontram-se dismutase, catalase, glutathione peroxidase e glutathione redutase (WILLIAMS et al., 1985).

Antioxidantes exógenos são antioxidantes que não podem ser produzidos pelo corpo e são obtidos pelo organismo através da dieta ou suplementos. Dentre os principais antioxidantes

encontram-se a vitamina C, os carotenoides, os flavonoides, os ácidos graxos como ômega-3 e ômega-6 (PHAM-HUY et al., 2008). Em geral, os antioxidantes são obtidos pelos alimentos, sendo encontrados na sua maioria nos vegetais, o que explica parte das ações saudáveis que as frutas e hortaliças exercem sobre o organismo (BENZAQUEN, 2010).

P. setacea apresenta, principalmente, vitamina C e compostos fenólicos. A vitamina C ou ácido ascórbico é considerado um antioxidante secundário ou sinérgico, já que é suscetível a se degradar se seus prótons doados não são restabelecidos, portanto os prótons perdidos são doados por agentes repositores para manter-se estável e evitar a formação de radicais livres. Exemplos de agentes repositores incluem carotenoides, coenzima Q e glutatona e flavonoides, sendo estes últimos são sinérgicos no ambiente aquoso (LITTARRU, 1993). Por outro lado, encontram-se os compostos fenólicos considerados como antioxidantes primários, pois promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia (BENZAQUEN, 2010). Portanto, os antioxidantes são utilizados com a intenção de eliminar radicais livres em excesso e manter a homeostase do corpo, assim como contribuir para a redução dos riscos de doenças crônicas não transmissíveis (LI et al., 2014).

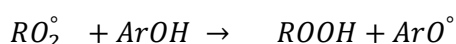
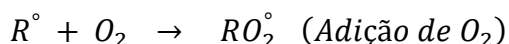
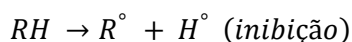
1.2.2 Mecanismo de ação dos antioxidantes

Existem diferentes mecanismos pelos quais os antioxidantes atrasam a autoxidação, por inibição da formação ou interrupção da propagação dos radicais livres (YEHYE et al., 2015): (i) A quelatação dos metais, principalmente dos íons metálicos (Fe^{2+}), sendo que estes metais catalisam os processos oxidativos, levando à formação de radicais hidroxilo e desta forma podem degradar os hidroperóxidos (BREWER, 2011); (ii) Redução das concentrações localizadas de O_2 para interromper a reação em cadeia de autoxidação (BURTON E INGOLD, 1981).

Os antioxidantes que são capazes de interromper a reação em cadeia de radicais livres são considerados antioxidantes mais eficazes. Normalmente contêm anéis aromáticos ou fenólicos, doando um H ao radical livre formado durante a oxidação e, conseqüentemente, os antioxidantes podem ter uma ação preventiva através de dois mecanismos ante a oxidação (MINISCI, 1997). A primeira é com o objetivo de prevenir a peroxidação lipídica, a qual

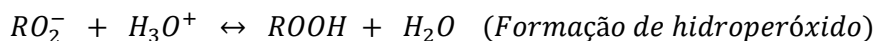
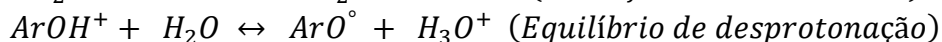
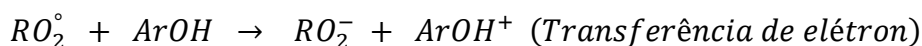
consiste na transferência de um átomo de H (Figura 3). O outro mecanismo possível, ocorre quando o antioxidante desativa um radical livre através da transferência de elétrons (Figura 4). Neste caso, é formado primeiro o cátion radical e posteriormente há uma desprotonação em solução rápida e reversível (WRIGHT et al., 2001).

Figura 3. Mecanismo de transferência de um átomo de H de um antioxidante e oxidação



Fonte: YEHYE et al., 2015

Figura 4. Transferência de elétron de um antioxidante



Fonte: YEHYE et al., 2015

1.3 Vitamina C

O ácido ascórbico é uma vitamina hidrossolúvel de fácil degradação. Mantém a estabilidade em meio ácido, na ausência de oxigênio e calor, porém em meio alcalino, na presença de oxigênio, calor, luz, metais (Fe, Cu e Zn) e enzima oxidase do ácido ascórbico a degradação tende a ser favorecida (RAIMUNDO et al., 2009).

O ácido ascórbico é capaz de doar um ou dois prótons (Figura 5) (MAY, 1999). O radical de semi-dehidroascorbato produz-se por meio da doação de um elétron de ascorbato. Posteriormente, a doação de um segundo próton resulta um radical de dehidroascorbato, que pode ser reconvertido em ácido ascórbico com a adição de glutathione (DIPLOCK, 1994).

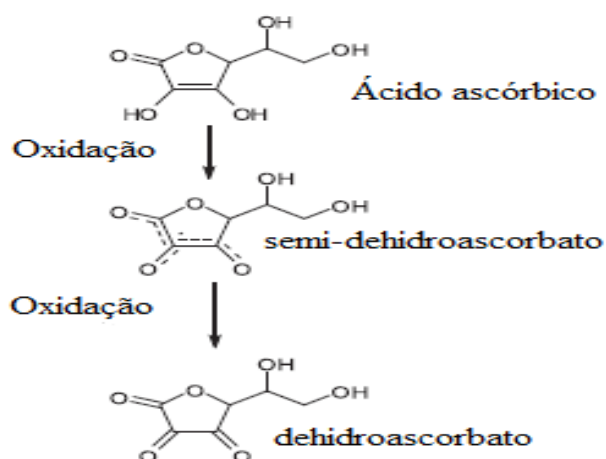


Figura 5. Estados de oxidação do ácido ascórbico
 Fonte: Diplock, 1994.

O ser humano não é capaz de sintetizar a vitamina C, sendo necessária uma dieta rica em frutas cítricas como limão, laranja, tangerina, acerola, morango e maracujá (MIRANDA, 2015). O ácido ascórbico participa como cofator de uma grande variedade de reações químicas fundamentais para a manutenção da saúde, como nos processos celulares de oxirredução. A substância que sofre oxidação, perdendo elétrons e aumentando o seu número de oxidação, é denominada agente redutor. Entretanto a espécie química que se reduz e ganha elétrons, diminuindo seu número de oxidação, é o agente oxidante. A vitamina C é um agente redutor, contribuindo também na regeneração de antioxidantes e inibindo a produção de substâncias indesejáveis da oxidação (PEREIRA, 2008). O emprego do ácido ascórbico na indústria de alimentos é intenso justamente por proporcionar conservação aos alimentos vulneráveis ao escurecimento enzimático e agregar valor nutricional (MIRANDA, 2015).

O ácido ascórbico possui a propriedade de inibir o escurecimento enzimático em alimentos pela redução de quinonas a fenóis, esse processo ocorre antes que sejam originados os pigmentos escuros. Assim, são necessárias quantidades mais elevadas deste agente antioxidante (MIRANDA, 2015).

1.4 Compostos Fenólicos

A estrutura dos compostos fenólicos consiste em um anel aromático, contendo um ou mais substituintes hidroxila (TSAO, 2010), os quais contém um anel benzoico e abrangem

inúmeras classes de bioativos, como flavonoides, ácidos fenólicos, cumarinas e, lignanas e alcaloides (ROCHA et al., 2011; CARVALHO; GOOSMAN; SCHENKEL, 2002). Na Tabela 2, apresenta-se a classificação dos compostos fenólicos contidos em plantas.

Tabela 2. Classificação dos compostos fenólicos em plantas.

Classe	Estrutura
Fenólicos Simples	C_6
Ácidos hidroxibenzoicos	C_6-C_1
Acetofenonas, ácidos fenilacéticos	C_6-C_2
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropenos	C_6-C_3
Naftoquinona	C_6-C_4
Xantonas	$C_6-C_1-C_6$
Antraquinonas	$C_6-C_2-C_6$
Flavonoides, isoflavonoides	$C_6-C_3-C_6$
Lignananas	$(C_6-C_3)_2$
Biflavonoides	$(C_6-C_3-C_6)_2$
Ligninas	$(C_6-C_3)_n$
Taninos condensados (proantocianidinas)	$(C_6-C_3-C_6)_n$

Fonte: Harborne, 1989, Harborne et al., 1999.

Os compostos fenólicos ou polifenóis são produzidos a partir de reações desencadeadas no metabolismo secundário da planta. Alguns fatores ambientais são favoráveis ao estímulo da produção de compostos fenólicos, como condições de estresse, infecções, fermentos, radiações ultra-violetas (UV) (ANGELO E JORGE, 2007).

Os fenólicos têm um papel importante na inibição da síntese de radicais livres por processos oxidativos. Atuam como antioxidante primário impedindo a formação de radicais hidroxis ou peroxis pelo mecanismo de doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres. Mas como antioxidante secundário, retarda o processo da autoxidação por diferentes intermédios como sequestro do oxigênio, decomposição de hidroperóxidos com a finalidade de interromper formação de radicais, absorção da radiação ultravioleta ou inativação de oxigênio (ADEGOKE et al., 1998; ANGELO E JORGE, 2007).

Uma grande variedade de plantas é considerada funcional por dispor de quantidades significativas de compostos fenólicos (MAMEDE E PASTORE, 2004). O aproveitamento de resíduos de frutas nas indústrias tem crescido devido a atividade antioxidante e as restrições quanto às substâncias antioxidantes sintéticas (MIRANDA, 2015).

Nas frutas, existem diferentes fitoquímicos e grande parte possui atividade antioxidante. As complexas reações bioquímicas de maturação do fruto implicam a produção de carotenoides, antocianinas, compostos fenólicos e compostos voláteis (JACQUES, 2009).

Na literatura podem-se encontrar estudos que determinam os conteúdos de compostos funcionais de diferentes partes da planta de *passiflora*. Gadiolli et al. (2016) realizaram a revisão sistemática dos estudos que investigaram o conteúdo de compostos fenólicos na semente, folhas e polpa de variedades de *Passifloras* spp. Eles determinaram que mais de 20 flavonoides foram achados, entre luteolina, isoorientina, kaempferol e seus derivados, além de cinco ácidos fenólicos, como ácido cafeico, ácido cumárico, ácido sérico, ácido elágico e ácido gálico na polpa de *passiflora*.

Na polpa de *Passiflora setacea* existem variedade de compostos nutricionais e funcionais, encontra-se na polpa 1.551 mg/100 g de amostra de sacarose, 600 mg/100 g de glicose e 606 mg/100 g de frutose, fenólicos totais 1671 mg equivalentes de catequina/100 g de amostra, atividade antioxidante de 28 umol ET/g de amostra pelo método DPPH, 1,8 mmol ET/g de amostra pelo método FRAP e 231 mmoles ET/100 g de amostra pelo método ORAC (VIEIRA, 2013).

CAZARIN et al. (2014) têm analisado o conteúdo de compostos fenólicos em cascas de frutos de maracujá e identificado a presença de valores altos que viabilizam o processamento desse resíduo para empregar na indústria alimentícia.

Na Tabela 3 apresenta-se o conteúdo de compostos funcionais da *P. setacea*.

Tabela 3. Compostos funcionais da *Passiflora setacea* em diferentes sistemas de condução em diferentes épocas do ano.

Composto	ES1	ES2	ECH1	ECH2	LS1	LS2	LCH1	LCH2
Vitamina C (mg/100g)	17,3	16,0	13,6	13,6	11,6	12,6	15,3	10,1
Fenólicos Totais (mg GAE/100 g)	74,8	63,4	85,5	95,0	76,3	77,3	69,5	86,0
Flavonoides Totais (mg QE/100 g)	0,92	0,96	0,89	1,52	0,63	1,54	0,96	3,02
Proantocianidinas (mg/100 g)	29,8	13,2	57,0	29,8	22,4	43,3	30,3	55,4

S: espaladeira Seca, ECH: espaladeira Chuva, LS: latada Seca, LCH: latada Chuva.
Fonte: De Carvalho, De Oliveira, Costa, 2018.

1.5 Aminas bioativas

Aminas bioativas ou biologicamente ativas são bases orgânicas alifáticas, cíclicas ou heterocíclicas de baixo peso molecular. Essas substâncias são formadas durante processos metabólicos normais e desempenham várias funções biológicas em organismos vivos, estando, assim, presentes nos alimentos (BARDÓCZ, 1995; GLÓRIA, 2005).

As principais fontes das aminas são alimentos frescos ou processados, e são considerados produtos da transaminação de aldeídos e cetonas, hidrólise de compostos nitrogenados, decomposição térmica ou por descarboxilação de aminoácidos (HALÁSZ et al., 1994). A principal reação para a produção de aminas consiste na remoção do α -carboxila a partir da estrutura de aminoácidos, formando assim a amina correspondente (SHALABY, 1996). A reação é realizada por meio de duas rotas bioquímicas, sendo uma pela ação de enzimas presentes nos alimentos (descarboxilação endógena) e a outra pela descarboxilação exógena favorecida pelas enzimas produzidas por micro-organismos (SILA-SANTOS, 1996). Estes microrganismos podem ser encontrados ou fornecidos na microbiota característica do produto, ou ainda pode ser introduzido antes, durante ou após a processamento (ROKKA, 2004).

Segundo BARDÓCZ (1995), as poliaminas são essenciais para o organismo, já que contribuem na multiplicação, na renovação e no metabolismo. Apresentam diversas funções

nas células, dentre elas, aumento da síntese do RNA, DNA e de proteínas, estabilização do RNA transportador e redução da taxa de degradação do RNA (BARDÓCZ, 1995; SILA-SANTOS, 1996; GLÓRIA, 2005).

1.5.1 Aminas bioativas em frutas

As aminas são classificadas de acordo com a sua via biossintética. As aminas biogênicas são formadas pela descarboxilação enzimática de aminoácidos, por exemplos histamina, serotonina, tiramina, feniletilamina e triptamina. As aminas naturais são a espermina e espermidina, as quais são formadas *in situ* nas células quando é necessário (SHALABY, 1996).

A aminas podem ser classificadas de acordo com o número de grupos amina presentes na molécula, com a estrutura química, ou com a ação no corpo (Tabela 4).

Tabela 4. Grupos das Aminas, estrutura química e ação no organismo.

Grupos aminas ⁽¹⁾	Estrutura química ⁽²⁾	Ação no corpo ⁽³⁾
Monoaminas: tiramina, feniletilamina.	Alifáticos: putrescina, espermina e espermidina.	Vasoativo: tiramina, triptamina, feniletilamina,
Diaminas: histamina, serotonina, triptamina, putrescina.	Aromáticos: tiramina e feniletilamina.	isoamilamina, histamina e serotonina.
Poliaminas: espermina, espermidina e agmatina.	Heterocíclico: histamina e triptamina.	Psicoativo: norepinefrina, serotonina e dopamina.

Fonte: (1) Sila-Santos (1996), (2) Saaid et al. (2009), (3) Kalac et al. (2009)

As aminas bioativas são inerentes aos organismos vivos, portanto, estão naturalmente presentes nas frutas, principalmente putrescina, agmatina, espermidina e espermina. Os perfis e os teores de aminas em frutas e hortaliças variam dependendo da espécie vegetal e do tipo de tecido (STARLING, 1998; GLÓRIA, 2005).

As poliaminas podem ser usadas como fonte de nitrogênio orgânico e desempenhar um papel importante em diversos processos, entre eles, crescimento da raiz, controle do pH intracelular, desenvolvimento de flor e fruto e resposta ao estresse abiótico, como deficiência de potássio, choque osmótico, estiagem e infecção patogênica. Poliaminas são também

importantes na síntese de metabólitos secundários de interesse biológico, por exemplo, nicotina e alcaloides (GLÓRIA, 2005). As poliaminas também possuem efeitos no aumento da firmeza, inibição da peroxidação lipídica e retardamento das alterações na cor da fruta (VALERO et al., 2002).

Um dos principais efeitos da aplicação de poliaminas exógenas na qualidade de frutas consiste em um aumento na firmeza, que pode ser atribuído à ligação cruzada das poliaminas a grupos carboxílicos de substâncias pécticas na parede celular, resultando na rigidez, detectável logo após o tratamento. Esta ligação também bloqueia o acesso de enzimas degradantes, reduzindo a taxa de amaciamento durante a estocagem (VALERO et al., 2002).

Algumas aminas presentes nas frutas podem ter papel protetor, tendo efeito repelente contra insetos roedores e animais predadores. Outras são importantes como precursoras de componentes biológicos importantes, como o hormônio de plantas ácido indol-3-acético, e o ácido fenil acético que são derivados da triptamina e feniletilamina, respectivamente. O maracujá é um fruto que se destaca pelos elevados teores de poliaminas, substâncias com grande potencial antioxidante e fator de crescimento (GLÓRIA, 2005).

As aminas são consideradas um agente antioxidante e desempenham um papel importante a nível fisiológico e bioquímico no corpo humano (DALA-PAULA, DEUS, TAVANO E GLÓRIA, 2020). As aminas absorvidas podem apresentar propriedades funcionais, no caso das poliaminas e espermina contribuem na divisão celular, na resposta ao estresse e na inibição da oxidação lipídica. As aminas biogênicas histamina, tiramina, triptamina, putrescina, oferecem um papel importante como neuroativos ou vasoativos (BARDÓCZ, et al. 1993). A amina feniletilamina pode prevenir doenças relacionadas com as funções cognitivas superiores, memória e na prevenção de esquizofrenia, depressão e Parkinson (TOFALO, PERPETUINI, SCHIRONE E SUZZI, 2016). São moléculas policatiônicas que ajudam na manutenção, renovação e integridade de células epiteliais intestinais (RAMOS-MOLINA et al., 2019). *P. setacea* contém histamina, agmatina, tiramina, putrescina e espermidina (GADIOLI et al, 2017). Esta última pode contribuir na redução da pressão arterial e evitando assim as doenças cardiovasculares pelas suas propriedades quelante e a capacidade de eliminar radicais livres (MUÑOZ-ESPARZA et al., 2019). Outro aspecto interessante na funcionalidade das aminas é no diagnóstico clínico, já que tem a capacidade de detectar pequenas mudanças em fluidos biológicos com o fim de identificar alterações metabólicas das doenças no estágio inicial (MARÁKOVÁ, PIEŠT'ANSK'Y, ZELINKOVÁ E MIKUŠ,

2020). Porém, o consumo elevado de aminas pode causar efeitos adversos, a tiramina pode ocasionar dor de cabeça, dilatação da pupila, embora não há um limite de consumo para esta amina (YILMAZ E GÖKMEN, 2020), para caso da histamina um consumo entre 600 – 2000 mg causa um aumento mínimo da pressão arterial, náusea, enxaqueca, dor abdominal e problemas cardíacos (EFSA, 2011).

1.6 Uso Industrial do Maracujá

Rossi (1998) relata que o maracujazeiro está entre as frutíferas tropicais com grande potencial de cultivo no Brasil, apresentando acentuada expansão e proporcionando popularização no mercado interno, entre os diferentes segmentos de consumo.

O processo de produção, distribuição e consumo de maracujá obedece a algumas peculiaridades, que são intrínsecas às características, às variedades de preço, oferta e aos aspectos de sazonalidade, que influenciam nesta cadeia produtiva (PIRES e MATA, 2004). A espécie *P. setacea* possui um grande potencial para a incorporação no mercado consumidor, seja pelas suas propriedades medicinais, ou em função do seu potencial como fruta fresca, devido ao sabor exótico, doce e saboroso do fruto (ATAÍDE et al., 2012).

1.6.1 Elaboração de polpa de frutas

A polpa de fruta é produto não fermentado, não congelado, não diluído, obtido de frutos polposos, por processo tecnológico adequado, com um teor mínimo de sólidos totais, provenientes da parte comestível do fruto e é considerada a principal matéria-prima para a elaboração de sucos (MACHADO, 2006).

O processamento de polpas no contexto da valoração da biodiversidade é importante porque agrega valor às matérias-primas nativas e silvestres, além de reduzir desperdício e as perdas do produto *in natura* durante a comercialização e transporte, aumentando o consumo de frutas de diversas regiões em todo o país e no exterior. De acordo com Machado (2006), as etapas do processamento de frutas são recepção de matéria-prima, limpeza, seleção, despulpamento, tratamento térmico e congelamento (Figura 6).

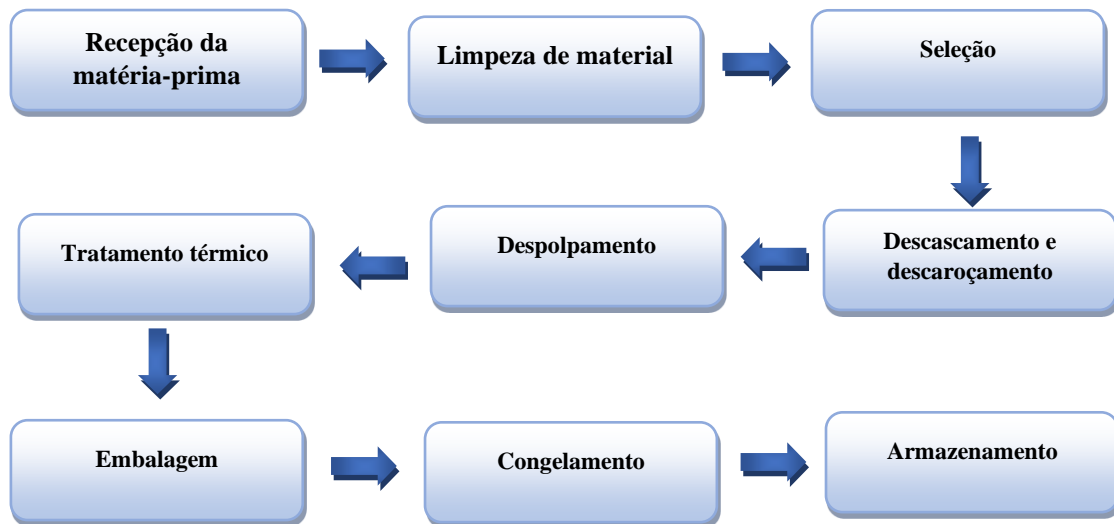


Figura 6. Fluxograma de obtenção de polpa de fruta congelada.

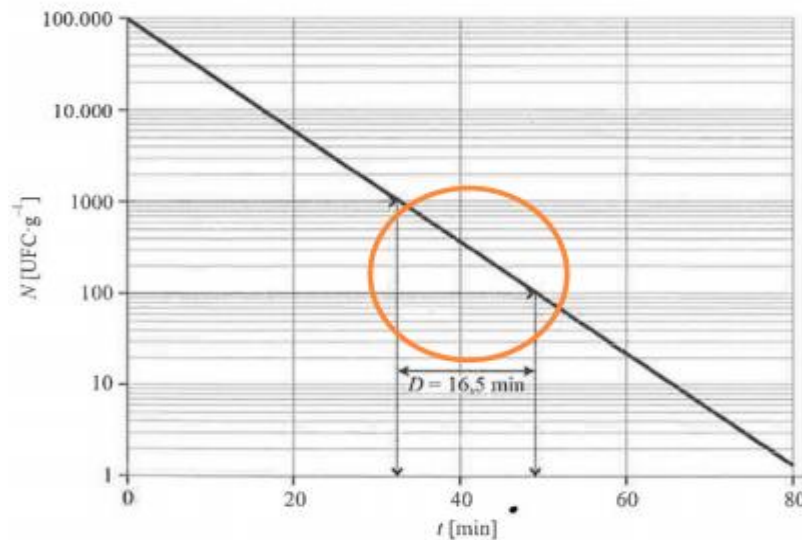
Fonte: Machado (2006).

1.7 Tratamento térmico

A pasteurização é o tratamento térmico mais utilizado na indústria de processamento de fruta, já que confere maior estabilidade ao suco, tendo como objetivo, reduzir a carga microbiana e conservar as características físicas, químicas e sensoriais. Os equipamentos empregados são o pasteurizador tubular que normalmente é utilizado para sucos viscosos que contenham troços de frutas ou pasteurizador de placa, utilizado principalmente para sucos totalmente líquidos (ROSENTHAL et al., 2003).

No caso de produtos ácidos ($\text{pH} < 4,5$), objetiva-se eliminar micro-organismos deterioradores (fungos e bactérias lácticas), podendo aquecer a $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $98\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 1 s a 22 s, para atingir conservação adequada, que consiste na redução de 9 ciclos logarítmicos (D). Na indústria de alimentos, o valor D é definido como tempo necessário, a uma temperatura determinada, para destruir 90% dos esporos ou células vegetativas de um alimento, ou inativar 90% de uma enzima alvo (FONTAN, 2012). Da mesma forma o valor D é aplicado para a degradação de substâncias responsáveis pelo sabor, cor e nutrientes como as vitaminas. As condições de pasteurização podem ser otimizadas para manter a qualidade sensorial e nutricional (FELLOWS, 2006).

Figura 7. Número de sobreviventes (N) em função do tempo de processo (t) a uma temperatura da constante, indicando o valor de $D = 16,5$ min ($49,1 - 32,6$) relativo ao tempo necessário para uma redução de 90 % da população, nessa temperatura.



Fonte: Fellows, 2006.

Em relação às características físicas desejáveis de um bom suco processado, a retenção das substâncias suspensas do suco fresco, mantendo este livre da formação de aglomerados gelatinosos é um ponto crítico a ser avaliado no dimensionamento de um processo térmico. A turbidez natural do suco é preservada por meio da inativação da pectinesterase (ROUSE; ATKINS, 1952).

1.8 Pectina

A turbidez é a mistura de partículas em suspensão contendo lipídios, proteínas, pectina, celulose e hemicelulose que resultam da ruptura das células das frutas durante a extração (ROUSE; ATKINS, 1952).

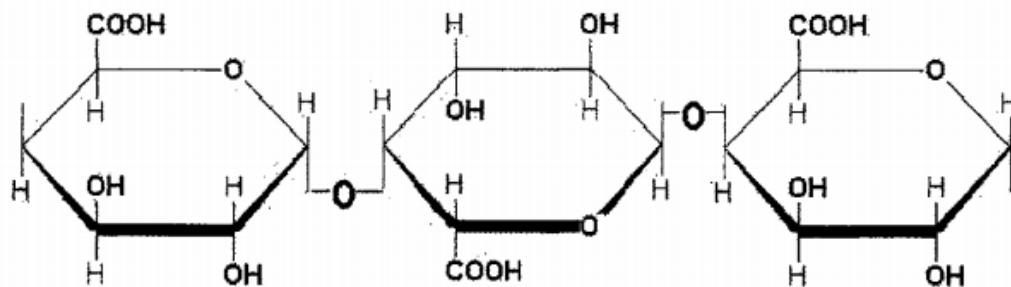
A pectina é, normalmente, referida como o componente que naturalmente estabiliza a turbidez dos sucos, pois exercem papel importante no aumento da viscosidade dos sucos, prevenindo ou retardando uma série de fenômenos físicos, como a sedimentação de partículas sólidas suspensas no meio, a cristalização da água ou do açúcar, a agregação ou a desagregação de partículas dispersas e a sinérese de sistemas gelificados (CUNHA et al., 2003)

A pectina utilizada em alimentos é definida como um polímero contendo unidades de ácido galacturônico (pelo menos 65%). Os grupos ácidos podem estar livres, combinados como

um éster metílico, ou como sódio, potássio, sais de cálcio ou de amônio, assim como o grupo amida pode estar presente em algumas pectinas.

A pectina quimicamente, é um polímero hidrofílico pertencente ao grupo dos hidrocoloides. Apresenta uma variedade de moléculas de carboidratos, contendo blocos de galacturose parcialmente esterificados com grupos metoxila e blocos com muitas outras moléculas de açúcar, como a arabinogalactose, galactose e arabinose além de outros açúcares em pequenas quantidades, em uma estrutura altamente ramificada. O ácido péctico ou ácido galacturônico é o resultado da desmetoxilação da pectina (IPPA, 2003).

Figura 8. Estrutura molecular de pectinas (ácido D-galacturônico)



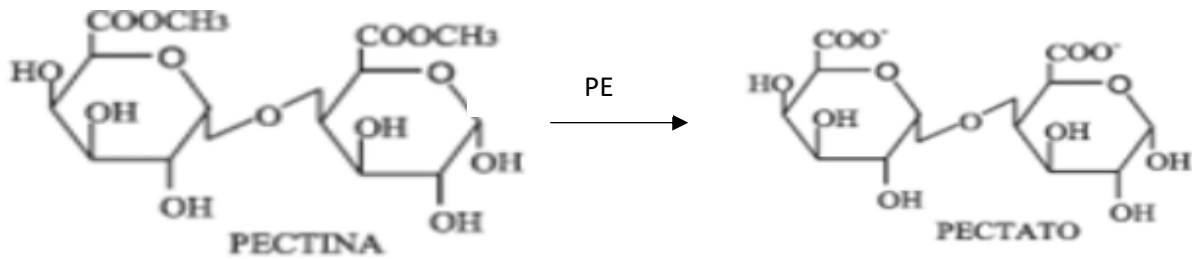
Fonte: Manunza, Deiana e Gessa, 1999.

A pectina é classificada como um agente estabilizante e atua pelo aumento da viscosidade, ajudando a manter a suspensão do suco e desta forma proporcionando a manutenção da sua turbidez (BABYLON, 1998).

1.8.1 A pectinesterase

A pectinesterase (PE) E.C 3.1.1.11 é uma enzima altamente específica e atua unicamente em metil ésteres. No caso das frutas cítricas atua sobre a pectina. O mecanismo catalítico ocorre na presença de água, por isso a (PE) é considerada uma enzima hidrolítica. Na reação, acontece a quebra da molécula de água e a adição de um hidrogênio a um carbono da ligação e o grupo hidroxila para o outro carbono (BABYLON, 1998).

Figura 9. Precipitação de pectina de baixo grau de metoxilação



Fonte: Uenojo e Pastore, 200

No caso das frutas cítricas, por exemplo, existe pectinesterase suficiente para desesterificar a quantidade de pectina existente em apenas 10 minutos no pH ótimo ($7,0 \leq \text{pH} \leq 7,5$) ou em menos de 4 h no pH do suco (VERSTEEG et al., 1980; CORRÊA NETO; FARIA, 1999). Uma unidade de pectinesterase (PEU) é definida como a quantidade de pectinesterase necessária para liberar 1 μ mol do grupo carboxil em um minuto (VERCET; LOPEZ; BURGOS, 1999).

Os fragmentos macroscópicos contendo também a pectina são considerados polpa. Essa polpa e a turbidez estão correlacionadas e contribuem para a viscosidade do suco. A quebra nas partículas da polpa ou uma desestabilização da turbidez provocam uma redução na viscosidade do suco (VERSTEEG et al., 1980; KIMBALL, 1991, CORRÊA NETO; FARIA, 1999).

No suco fresco ou sub pasteurizado a PE desesterifica a pectina, produzindo metanol e pectina com baixa metoxilação. Subsequentemente ocorre a precipitação da pectina de baixa metoxilação por íons de cálcio o que resulta na perda de turbidez, um problema que afeta seriamente a qualidade do suco, pois compromete a sua aparência e reduz o sabor e aroma naturais do suco, aumentando a sensibilidade à oxidação (VERSTEEG et al., 1980).

1.9 Efeito do processamento e do armazenamento nos compostos bioativos

Na Tabela 5 são apresentados estudos realizados com variedades de frutas as quais são avaliados os efeitos dos tratamentos térmicos e diferentes condições de armazenamento nos compostos bioativos presentes nas amostras que se encontram em várias apresentações, como suco, néctar, polpa e purê.

Tabela 5. Estudos realizados para avaliação do efeito de processos térmicos e armazenamento nos compostos bioativos em alimentos.

Alimento, bebida ou compostos isolado	Composto(s) analisado(s)	Caracterização da Amostra	Resultados significativos	Referência
Alimento infantil com frutas	Vitamina C	<p>Comida de bebê com diferentes frutas:</p> <p>Opção 1: Leite desnatado, maçã e banana.</p> <p>Opção 2: Leite desnatado, pêssego, maçã, laranja e banana.</p> <p>Opção 3: Leite desnatado, cenoura e carne.</p>	<p>O armazenamento seguiu a cinética da reação de ordem zero. Retenção de vitamina C (> 68%) muito maior no caso de alimentos para bebês à base de frutas armazenados sob refrigeração (5 ° C).</p>	Cánovas et al., 2020.
Polpa de Lichia	Teores de compostos fenólicos totais e de flavonoides totais	<p>Sucos de lichia <i>in natura</i>, pasteurizados e armazenados.</p>	<p>Observou-se um efeito significativo dos processos de pasteurização e armazenamento nos compostos analisados.</p>	Su et al, 2019.

Alimento, bebida ou compostos isolado	Composto(s) analisado(s)	Caracterização da Amostra	Resultados significativos	Referência
Polpa de Butiá	Ácido ascórbico, compostos fenólicos, flavonoides.	Polpa de Butiá pasteurizado e armazenada.	O processamento térmico e armazenamento afetaram em maior proporção o teor de ácido ascórbico em comparação do teor de flavonoides e compostos fenólicos.	Hoffmann et al., 2017.
Fruta de Baobá (Malawi)	Teor de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante total (FRAP, ABTS e DPPH) e vitamina C.	Polpa liofilizada.	Os diferentes tratamentos de pasteurização 72 °C por 15s, 60 °C por 30 min, 60 °C por 60 min e 85 °C por 15 s reduziram o teor de vitamina C em 25,7%, 54,7 %, 87,41% e 90,58 %, respectivamente enquanto aos efeitos do armazenamento os compostos bioativos começam a ser afetados a partir do dia 60 numa temperatura de 60 °C.	Tembo, Holmes e Marshall, 2017.

Alimento, bebida ou compostos isolado	Composto(s) analisado(s)	Caracterização da Amostra	Resultados significativos	Referência
Suco de pera	Flavonoides, vitamina C	Suco de pera pasteurizado (65 °C for 10 min e 95 °C for 2 min)	Inativação de enzimas e com o aumento da temperatura de pasteurização houve uma redução nos compostos bioativos.	Saeeduddin et al., 2015.
Néctares de manga	Compostos fenólicos	Néctares de manga submetidos altas pressões e pasteurização.	Não houve diferença significativa na redução dos compostos bioativos entre os tratamentos.	Liu et al., 2013
Polpa de morango.	Ácido ascórbico, fenóis totais e capacidade antioxidante (FRAP, DPPH)	Sucos e purês de morango pasteurizados.	Houve uma perda significativa nos teores dos compostos bioativos no puré foi de 77% e suco de morango foi de 37% para o parâmetro de vitamina C submetido ao processamento térmico.	Hartmann et al., 2006.

Hartmann et al. (2006) determinaram a influência do processamento térmico (40 °C /30 min) e de tratamento enzimático sobre o teor de ácido ascórbico, de compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante pelos métodos FRAP e DPPH. O tratamento térmico causou um acréscimo dos produtos ativos antioxidantes. O teor de ácido ascórbico, em comparação com os morangos congelados, diminuiu significativamente durante o processamento térmico em 77%. O declínio de compostos fenólicos, medido como polifenóis totais e antocianinas, foi menor (entre 30% - 40%). Prensagem e pasteurização foram etapas críticas para a diminuição desses compostos.

Saeeduddin et al. (2015) estudaram o efeito sobre a inativação das enzimas peroxidase, pectinmetilesterase e polifenol oxidase, compostos bioativos (compostos fenóis totais, flavonoides, vitamina C), inativação microbiana (fungos filamentosos e leveduras) e parâmetros químicos no suco de pera esterilizado por ultrassom e pasteurizados. As condições do ultrassom foram 25 °C, 45 °C e 65 °C por 10 min e pasteurização com binômios tempo/temperatura de 10 min/ 65 °C e 2 min/ 95 °C. Posteriormente, as amostras foram refrigeradas numa temperatura de 4 °C até a realização dos experimentos. Houve inativação completa das enzimas estudadas e diminuição da carga microbiana no suco pasteurizado no binômio de 2 min / 95 °C mas este tratamento também mostrou maiores perdas de ácido ascórbico, compostos fenóis totais, total de flavonoides e capacidade antioxidante com porcentagens de 30 %, 13,9 %, 21,6 % e 22,3 %, respectivamente. Os sucos pasteurizados na temperatura de 65 °C por 10 min mostraram os melhores resultados na retenção de ácido ascórbico e outros compostos fenólicos, com porcentagens de 86,5 % para ácido ascórbico, 91,2 % para fenóis totais, 86,8 % para total de flavonoides e 83,5 % para atividade antioxidante, de igual forma apresentou uma redução das atividades enzimáticas e completa inativação da atividade microbiana.

Tembo, Holmes e Marshall (2017) determinaram os efeitos causados pela pasteurização no teor de ácido ascórbico, vitamina C total, ácidos orgânicos (cítrico e málico), procianidina B2, epicatequina, compostos fenóis totais e atividade antioxidante no suco de Baoba, pasteurizado por 15 s na temperatura de 72 °C e suas condições de armazenamento foram a 6 °C, 15 °C e 30 °C por 60 dias. A pasteurização manteve a vitamina C, que mostrou ainda meia-vida prolongada nos 28 dias sob temperatura de refrigeração (6 °C). Enquanto procianidina B2, epicatequina, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante apresentaram flutuações

durante o armazenamento. A atividade antioxidante apresentou correlação significativa ($p < 0,05$) com compostos bioativos e com compostos fenólicos totais.

Hoffmann et al. (2017) estudaram o efeito do tratamento térmico (100 °C por 10 min) sobre o teor de vitamina C, carotenóides, compostos fenólicos totais, flavonoides, atividade antioxidante (DPPH e ABTS) e aceitação sensorial. Após a pasteurização e das condições de armazenamento por 12 meses a polpa reduziu os teores de fenólicos em 37,7 %, flavonoides em 17,7 % e ácido e vitamina C em 32,7 %. os teores de carotenoides, vitamina C e de fenólicos não foram afetados pelo armazenamento de 3 meses de néctar de butiá.

Su et al. (2019) investigaram os efeitos de diferentes tratamentos térmicos (70 °C e 121 °C, por 30 min) e das condições de armazenamento (4 °C e 45 °C por 0 h, 24 h, 72 h, 120 h e 168 h) nos teores de compostos fenólicos, flavonoides e a atividade antioxidante (FRAP e ORAC) de sucos de três variedades de lichia (Guiwei), (Huaizhi), (Nuomici). Após o tratamento térmico a 121 °C, o teor dos compostos fenólicos dos sucos de lichia aumentaram significativamente 40,01% (Guiwei), 86,50% (Huaizhi) e 121,82% (Nuomici) em comparação com os sucos de lichia não pasteurizados e tratados com calor a 70 °C. Após tratamento térmico a 121 °C, o teor de galocatequina teve um acréscimo de 89,50%, no entanto, com o tempo de armazenamento de 72 h à temperatura de 45 °C, a galocatequina degradou-se e desapareceu. O acréscimo pode ser explicado pela ação da temperatura nas ligações de hidrogênio, fazendo possível a interação dos compostos fenólicos com proteínas provocando assim os aumentos destes compostos (OZDAL, CAPANOGLU E ALTAY, 2013)

Cánovas et al. (2020) determinaram a degradação simultânea de ácido ascórbico, dehidroascórbico e dicetogulônico em alimentos comerciais para bebê a base de frutas com distintos teores umidade, em diferentes períodos e temperaturas de armazenamento. As alterações de ácido ascórbico durante o armazenamento seguiram a cinética da reação de ordem zero e sua retenção foi maior (> 68%) nos alimentos armazenados sob refrigeração de 5 °C.

1.10 Vida de prateleira

Os alimentos com maior risco de contaminação incluem alimentos de origem animal e produtos hortícolas não cozidos. Para segurança dos alimentos, é importante determinar quanto tempo um produto é seguro para consumo dentro dos parâmetros de armazenamento projetados. Para conseguir isso, o produto é armazenado na temperatura e condições recomendadas de armazenamento até que o limite máximo legalmente permitido para números de microflora definida seja atingido e, em seguida, o fabricante subtraia um período adicional para permitir uma margem de segurança adicional pela qual o produto pode ser consumido. Essa margem de segurança deve ser determinada e aplicada pelo fabricante após examinar todas as condições razoavelmente previsíveis de processamento e uso (FSAI, 2014). A segurança dos alimentos é garantida principalmente por uma abordagem preventiva, como a implementação de Boas Práticas de Fabricação e a aplicação de procedimentos baseados na Análise de Perigos e Princípios Críticos de Controle (Protocolo EC 2073/2005). Tais práticas garantem a ausência de micro-organismos patogênicos durante a produção e minimizam a carga microbiana dentro das diretrizes regulatórias. A deterioração de alimentos causada por micro-organismos pode ser identificada pelas mudanças na cor, aparência, textura e um odor desagradável. (IFST, 1993).

A vida de prateleira é definida como o tempo durante o qual os alimentos permanecem seguros, com características sensoriais, químicas, físicas e microbiológicas dentro dos padrões estabelecidos e com o cumprimento da informação nutricional declarada no rótulo (IFST, 1993).

A vida de prateleira está relacionada com o produto no mercado em termos de qualidade e percepção do consumidor, sendo que a medição das características de armazenamento ocorre em condições ambientais cuidadosamente controladas que raramente são cumpridas na prática, especialmente uma vez que o produto deixou o ambiente de armazenamento (IFST, 1993).

Os fatores que afetam a vida útil do produto são intrínsecos, os quais estão influenciados pela qualidade, formulação e estrutura do alimento. Esses fatores são basicamente as propriedades dos alimentos, como por exemplo, atividade da água (a_w), pH e acidez total, potencial redox, oxigênio disponível, composição nutricional, microbiota natural e contagens de micro-organismos, bioquímica natural da formulação do produto como enzimas e outras substâncias químicas (KILCAST E SUBRAMANIAM, 2000).

Os fatores extrínsecos são aquelas condições a que se submete o produto final à medida que se desloca através da cadeia produtiva alimentar. Exemplos de fatores extrínsecos são binômios tempo/temperatura durante o processamento, pressão do processamento, controle de temperatura, umidade relativa (UR), exposição à luz (UV e IR), contagens microbianas ambientais durante o processamento, armazenamento e distribuição, composição da atmosfera dentro da embalagem, tratamento térmico subsequente (por exemplo, reaquecimento ou cozedura antes do consumo) e manipulação do consumidor. Consequentemente, a interação de fatores intrínsecos e extrínsecos produz diferentes processos dentro do produto e a classificação depende se produzem uma inibição ou se estimulam processos que limitam a vida útil. Os processos são classificados em microbiológicos, químicos e físicos (KILCAST E SUBRAMANIAM, 2000).

Geralmente, a vida de prateleira pode ser determinada por diferentes métodos. Pode-se estimar a vida de prateleira por meio de testes sensoriais (aceitação do consumidor ou medidas descritivas); medidas físicas, como textura, cor, umidade e perda de peso; medidas químicas, como produtos da reação de Maillard e redução nos compostos de interesse e medidas microbiológicas (KILCAST E SUBRAMANIAM, 2000).

A previsão da vida de prateleira pode ser feita por meio de “Testes Acelerados de Vida de Prateleira” (TAVP) que permitem, em um tempo de estudo reduzido, estimar a vida de prateleira do produto de interesse, em diferentes condições de armazenamento. Os TAVP só podem ser utilizados se houver uma relação conhecida e validada entre as características de armazenamento em condições ambientais e aceleradas. A premissa básica de um teste acelerado é que, ao alterar uma condição de armazenamento, o processo químico ou físico que leva à deterioração é acelerado e pode ser definida uma relação preditiva da vida de prateleira relacionada às condições ambientais (KILCAST E SUBRAMANIAM, 2000).

1.10.1 Teste acelerado de Vida de Prateleira (TAVP)

O envelhecimento acelerado tradicionalmente envolve o aumento da temperatura para acelerar as reações (WATERMAN E ADAMI, 2005). Os TAVP são projetados para reduzir o tempo de avaliação, acelerando a velocidade de reação que favorecem a deterioração do produto pela exposição a fatores como altas temperaturas ou umidade (O’SULLIVAN, 2016).

A modelagem matemática pode ser usada para levar em conta as diferenças, lineares ou não lineares, entre a vida útil em tempo real e os testes acelerados, e pode ser aplicada a qualquer processo de deterioração que possua um modelo cinético válido, que pode ser químico, físico, bioquímico ou microbiano (O'SULLIVAN, 2016). A velocidade de reação depende da cinética das reações que por sua vez são definidas por diferentes leis. Esta velocidade de reação é definida pela Equação 1 (TEIXEIRA NETO et al., 2004):

$$r = \frac{dC}{dt} \quad (1)$$

Sendo:

C = concentração do componente ou nota de um atributo

t = tempo de reação

r = velocidade de reação.

Uma vez definida a velocidade de reação, é relevante se definir o modelo matemático, o qual vai descrever a cinética da reação de degradação, sendo possível determinar a ordem da reação que pode ser: ordem zero, primeira ordem, segunda ordem, etc (TEIXEIRA NETO et al., 2004).

No caso da reação de ordem zero a velocidade não depende da concentração dos reagentes é definida como, Equação 2:

$$-r = -\frac{dC}{dt} = k \quad (2)$$

Sendo:

k = constante da velocidade de reação

O sinal negativo é usado quando ocorre uma perda do fator de qualidade, por exemplo a deterioração de vitamina C e é usado o sinal positivo quando ocorre o oposto, isto é, há um aumento do fator de qualidade. Integrando a Equação 2, obtém-se:

$$C_0 - C = kt \quad (3)$$

Sendo:

C₀ = Concentração inicial do componente

C = Concentração final do componente

Nesse sentido na reação de ordem zero é obtida uma linha reta toda vez que é plotado um gráfico em escala linear (concentração versus tempo de reação) e a inclinação da reta traçada representa a constante de velocidade de reação (ARABSHARI & LUND, 1985). Nos alimentos pode se encontrar com maior frequência este tipo de reações, como nos casos de degradação enzimática de frutas e vegetais, escurecimento não enzimático e oxidação lipídica de desidratados (AYLWARD & HAISMAN, 1969).

No caso de uma reação de primeira ordem o modelo matemático é apresentado na Equação 4:

$$-r = -\frac{dc}{dt} = kC \quad (4)$$

Integrando a Equação 4:

$$\ln \ln \frac{C}{C_0} = -k \cdot t \quad (5)$$

Neste caso, ao plotar um gráfico monologarítmico (concentração do reagente vs. tempo de reação) obtém-se uma linha reta. Trata-se de uma reação de primeira ordem e a inclinação da reta representa a constante da velocidade de reação (ARABSHARI & LUND, 1985).

Estes tipos de reações são comuns quando há multiplicação e morte de microrganismos, a diminuição de vitaminas e pigmentos durante o processamento e armazenamento, destruição de toxinas por aquecimento e rancidez de óleos (MOURA et al., 2007).

Nas Equações 6 e 7 são apresentados os modelos matemáticos para as reações de segunda ordem, a velocidade de conversão depende principalmente da concentração dos reagentes:

$$-r_A = -\frac{dC_A}{dt} = -\frac{dC_B}{dt} = k C_A C_B \quad (6)$$

$$-r_A = -\frac{dC_A}{dt} = k C_A^2 \quad (7)$$

Integrando a equação (7):

$$\frac{1}{C_A} - \frac{1}{C_{A0}} = kt \quad (8)$$

Portanto, a plotagem dos dados obtidos será feita numa escala linear do inverso da concentração de um reagente em função do tempo de reação e é obtida uma linha reta. No caso de uma reação de segunda ordem a inclinação da reta traçada representa a constante da velocidade da reação (ARABSHARI, LUND, 1985).

Nos alimentos, a ordem da reação varia entre zero e dois, no mesmo alimento pode se encontrar que uma reação é de primeira ordem para um componente A e a sua vez pode ser da ordem zero para um componente B (Teixeira Neto et al., 2004).

Na comercialização dos alimentos é importante ter conhecimento sobre os efeitos que tem a temperatura na velocidade de reação de deterioração dos parâmetros de qualidade, já que é um fator de aceleração e permite dar uma estimativa da vida de prateleira. Nesse sentido, o modelo matemático que se aproxima na predição dos efeitos da temperatura é a Equação de Arrhenius (9) (VITALI et al., 2004):

$$\frac{d(\ln \ln K)}{dT} = \frac{E}{R \cdot T^2} \quad (9)$$

Sendo:

T = temperatura absoluta (K)

E = energia de ativação aparente (kcal/mol)

R = constante dos gases

k = constante da velocidade de reação

Integrando a equação acima em intervalos definidos, obtém-se:

$$\ln \ln K = \frac{-E}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right) + \ln \ln K_0 \quad (10)$$

Sendo,

E= energia de ativação (kcal/mol);

T= temperatura absoluta final (K);

T₀= temperatura absoluta referência (K);

k= constante de velocidade da reação.

O valor Q_{10} é outra representação que pode se empregar para estimar a vida de prateleira e é definida como o quociente entre as velocidades de reação a uma determinada temperatura e uma temperatura 10 °C inferior ou 10 °C superior. Na Equação 11 se apresenta o valor Q_{10} (FARIA, 1990):

$$Q_{10} = \frac{K_T}{K_{T-10}} = \frac{V.P (T - 10)}{V.P (T)} \quad (11)$$

Quando são usadas temperaturas demasiado elevadas, por exemplo acima de 100 °C pode se apresentar erros na estimação da vida de prateleira por testes acelerados, uma vez que a energia de ativação (E_a) pode variar e este fenômeno é muito comum quando se apresentam reações oxidativas. Por este motivo, o uso de E_a e do Q_{10} permite uma aplicação racional do tratamento térmico e da manipulação das temperaturas de estocagem (FARIA, 1990).

1.11 Análise Sensorial dos Alimentos

No contexto da determinação da vida de prateleira, a qualidade sensorial é um aspecto de grande relevância e testes devem ser aplicados para aferir o tempo no qual as características sensoriais do produto permanecem aceitáveis (MINIM e SILVA, 2016).

Análise sensorial é uma ciência que investiga como os produtos ou inclusive alguns serviços são percebidos pelos sentidos da visão, olfato, gosto, ouvido, e tato dos seres humanos. Especificamente na indústria alimentar, é uma ferramenta de grande importância por fornecer informação sobre o desenvolvimento de novos produtos, controle de qualidade e pode ser útil para construção de estratégias de *marketing* na venda dos produtos novos ou já existentes, mas que tem alguma modificação na sua formulação ou forma de processamento (MINIM e SILVA, 2016).

Os testes sensoriais são classificados em afetivos, descritivos e discriminatórios. Os testes afetivos são realizados com consumidores, pessoas que possuem o hábito de consumir o produto em avaliação ou versões similares. Os testes descritivos e discriminatórios exigem na sua prática a participação de avaliadores com algum grau de treinamento ou orientação. (MINIM e SILVA, 2016).

1.11.1 Método Sensorial Descritivo

Na análise descritiva, o avaliador analisa com uma escala o grau de intensidade com que cada atributo está presente. Os julgadores devem ser treinados a usar a escala de forma consistente em relação à equipe e às amostras, durante todo período de avaliação. Exige-se cuidado na padronização do preparo e apresentação de amostras e na formação da equipe sensorial. As amostras devem ser codificadas com números de três dígitos aleatórios, casualizadas e apresentadas à equipe treinada e selecionada. As técnicas descritivas mais utilizadas são: o perfil de sabor, perfil de textura e a análise descritiva quantitativa (ADQ).

Análise descritiva quantitativa (ADQ) foi desenvolvida por Stone et al. (1974) e é muito utilizada para traçar, da forma mais completa possível, o perfil sensorial quanto aos atributos de aparência, odor, textura e sabor. O método identifica os atributos e os quantifica na ordem de ocorrência. Primeiramente, os atributos são definidos pela equipe sensorial que busca os termos descritores e seus significados, os materiais de referências adequados e a melhor sequência de avaliação (ZENEBO, 2008).

A ADQ é o método convencional mais utilizado para descrever a natureza e a intensidade das propriedades sensoriais, mas pode apresentar algumas limitações, como por exemplo, o tempo de execução extenso, já que é preciso realizar teste sensoriais preliminares, deve-se realizar o treinamento, pagar licença e a validação estatística dos avaliadores. Portanto, na atualidade vêm sendo desenvolvidas novas metodologias para a realização de testes sensoriais descritivos, com fim de reduzir o tempo de execução e realizar os testes com consumidores ou com avaliadores semi-treinados. Dentre os vários métodos desenvolvidos recentemente, destaca-se o *Check-All-That-Apply* (CATA) (VALENTIN et al., 2012).

O CATA é um método que adota questionário constituído por questões de resposta múltipla, consistindo numa lista de atributos (palavras ou frases), em que os avaliadores escolhem aqueles que melhor caracterizam cada produto (VALENTIN et al., 2012).

Para este tipo de questões existe um limite no número de atributos escolhidos para que todas as decisões possam ser feitas corretamente e sem qualquer tipo de pressão. Os atributos de uma pergunta CATA não são restringidos apenas a características sensoriais, podendo estar relacionados igualmente com aspetos emocionais ou de sensações (características como o fresco ou o adstringente) e hedônicos (características como o suave) (DOOLEY et al., 2010).

1.11.2 Método sensorial afetivo

Testes afetivos podem avaliar a aceitação ou a preferência dos consumidores em relação a um ou mais produtos. O julgador expressa seu estado emocional ou a reação afetiva ao escolher um produto pelo outro (ZENEBO, 2008).

O teste da escala hedônico é aquele em que se levanta o grau de gostar ou de desgostar de um determinado produto, de forma globalizada ou em relação a um atributo específico. São utilizados termos entre “gostei muitíssimo” e “desgostei muitíssimo” com um termo neutro “não gostei; nem gostei”, onde os consumidores devem dar uma nota de acordo à escala de 7 e 9 pontos. Se deve levar a consideração que as categorias devem ser balanceadas entre os termos de gosto e desgosto. Ao consumidor são apresentadas as amostras de forma aleatorizada codificado com 3 dígitos. O número recomendado de consumidores para julgar as amostras está entre 50 e 100. O delineamento experimental a ser utilizado deve ser previamente escolhido, podendo-se optar pelo de blocos completos balanceados ou blocos incompletos casualizados, conforme a situação ZENEBO, 2008).

REFERÊNCIAS

ADEGOKE, G.O. Antioxidants and lipid oxidation in food- a critical appraisal. *Journal of Food Science & Technology*, v.35, n.4, p.283-98, 1998.

ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. *Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo*, v.66, n.1, p.1-9, 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. Análise sensorial dos alimentos e bebidas: terminologia, p. 8, 1993.

ATAÍDE, E. M.; de OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. Florescimento e frutificação do maracujazeiro silvestre *Passiflora setacea* D. C. cultivado em Jaboticabal, SP. *Revista Brasileira de Fruticultura*. v. 34, n. 2, p. 377-381. 2012.

AYLWARD, F.X.; HAISMAN, D.R. Oxidation systems in fruits and vegetables. *Advances in Food Research*, San Diego, v.1, n.3, p.17-28, 1969.

BABYLON. What are pectinesterases. Disponível em: <<http://www.babylon6.demon.co.uk/pe.html>>. Acesso: 23 setembro 2019.

BARDÓCZ, S. Polyamines in foods and their consequences for food quality and human health. *Trends in Food Science and Technology*, v. 6, p. 341-346, 1995.

BENZAQUEN, T. Os Antioxidantes, 2010 *Food Ingredients Brasil*. Disponível em: www.revista-fi.com, Acesso: 25 setembro 2019.

BURTON, G.; INGOLD, K. Autoxidation of biological molecules. 1. Antioxidant activity of vitamin e and related chain-breaking phenolic antioxidants in vitro. *Journal of the American Chemical Society*. p. 6472-6477, 1981.

BRAGA, M.F.; SANTOS, E. C.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SOUZA, A. A. T. C.; FALEIRO, F. G.; REZENDE, L. N.; JUNQUEIRA, K. P. Enraizamento de estacas de três espécies silvestres de *Passiflora*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 28, n. 1, p. 284-288, 2006.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*. p. 317–333, 1998.

BREWER, M. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Food Science*. p. 221e 247, 2011.

CAMPOS, A. V. S. Características físico-químicas e composição mineral da polpa de *Passiflora setacea*. Dissertação de Mestrado em Agronomia. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Universidade de Brasília. Brasília. p. 90, 2010.

CÁNOVAS, J.; BOTELLAA, S.; BORRÁSC, F.; MARTÍA, N.; VALEROA, M.; SAURAA, D.; MARÍA C. MARTÍNEZ-MADRIDD, M.; LAENCINAB, J. Vitamin C loss kinetics and shelf life study in fruit-based baby foods during post packaging storage. *Food packaging and shelf life*, 2020.

CARVALHO, J.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. Compostos fenólicos simples e heterosídeos. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 4. ed. Porto Alegre: Editora Ufsc. Cap. 20. p. 443-459, 2002.

CASIMIR, D.; KEFFOR, J.; WHITTFIELD, F. Technology and flavor, chemistry of passion fruit juices and concentrates. *Advances in Food Research*, v. 27, p. 243-295, 1981.

CAZARIN, C. B. B. et al. Capacidade antioxidante e composição química da casca de maracujá (*Passiflora edulis*). *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 44, n. 9, set, 2014.

CENTA. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. Guía técnica de Maracuyá Amarillo. p. 10-12, 2002.

CEPLAC. Comissão Executiva de Planejamento da Lavoura Cacaueira. Maracujá. Disponível em: < <http://www.ceplac.gov.br/radar/maracuja.htm> >. Acesso em: 23 de setembro 2019.

COHEN, K. O. et al. Compostos fenólicos e vitamina C na polpa extraída dos frutos do híbrido de maracujazeiro azedo BRS ouro vermelho. Comunicado Técnico 156. Planaltina, DF, 2008.

CORRÊA NETO, R.S.; FARIA, J.A.F. Fatores que influem na qualidade do suco de laranja. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.19, n.1, p.153-60, 1999.

COSTA, A. M.; TUPINAMBÁ, D. D. O maracujá e suas propriedades medicinais – estado da arte. In: Faleiro, F. G.; Junqueira, N. T. V.; Braga, M. F. (Eds.) *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. p. 475-506, 2005.

COSTA, A; CAMPO, A, COHEN, K; TUPINAMBÁ, D; Paes, N; SOUSA, H; SANTOS, A; SILVA, K; FARIA, D; JUNQUEIRA, N; FALEIRO, F. Características Físico-Química-Funcional da Polpa de *Passiflora setacea*, 2008.

CUNHA, M. A. P.; BARBOSSA, L. V.; Aspectos botânicos. In: Maracujá. Produção: aspectos técnicos. LIMA, A. A. (ed.). Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. cap. 3, p. 11-14, 2002.

CUNHA, M. A. A.; GÓMEZ, R. J. H. C.; AMORIM, E. S. Goma curdlana: um importante hidrocolóide microbiano. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 24, n. 2, p. 379-384, 2003.

DALA-PAULA, B; DEUS, V; TAVANO, O; GLORIA, M. In vitro bioaccessibility of amino acids and bioactive amines in 70% cocoa dark chocolate: What you eat and what you get. Food Chemistry, 2020.

DE CARVALHO, M. V. O., DE OLIVEIRA, L. L., & COSTA, A. M. Effect of training system and climate conditions on phytochemicals of *Passiflora setacea*, a wild *Passiflora* from Brazilian savannah. Food Chemistry, 266, 350-358, 2018.

DIPLOCK, A. CHAPTER 4 ANTIOXIDANTS AND FREE RADICAL SCAVENGERS, IN: new comprehensive biochemistry, Elsevier. p. 122, 1994.

DHAWAN, K.; DHAWAN, S.; SHARMA, A. *Passiflora*: a review update. Journal of Ethnopharmacology. v. 94, p. 1-23, 2004.

DOOLEY, L., LEE, Y.-S. e MEULLENET, J.-F. The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. Food Quality and Preference, 21. p. 394-401, 2010.

DUARTE, I.A.E.; MILENKOVIC, D.; BORGES, T.K.S.; ROSA, A.J.M.; MORAND, C.; OLIVEIRA, L.L.; COSTA, A.M. Acute Effects of the Consumption of *Passiflora setacea* Juice on Metabolic Risk Factors and Gene Expression Profile in Humans. Nutrients, 12, 1104, 2020.

EFSA, European Food Safety Authority. Scientific Opinion on risk-based control of biogenic amine formation in fermented foods. EFSA, panel on biological hazards (BIOHAZ), 2011.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Proposta Aprovada no Edital Encomenda - CT-Biotecnologia 2012 COBRG (APQ) Rede Passitec Etapa II Desenvolvimento tecnológico para uso funcional das *Passifloras* silvestres, 2013.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. (Eds). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 474-501, 2005.

FELLOWS, P. J. Tecnologia do processamento de alimentos. 2. ed. Porto Alegre: Artmed. p. 602, 2006.

FONTAN, R; ALCÂNTARA, L; NETO, S; BONOMO, R; FONTAN, G. Cinética de inativação da peroxidase em água de coco. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 33. p. 252-253, 2012.

FSAI. Guidance Note No. 18 Validation of Product Shelf-Life (Revision 2), ISBN 1- 904465-33-1, 2014.

GADIOLI, I.L.; OLIVEIRA, L.L.; MACHADO, G.M.; GLÓRIA, M.B.A.; ARAÚJO-JÚNIOR, S.D.; BRITO, E.S.; COSTA, A.M. Composition and biological properties of wild *Passifloras* from Brazilian Savanna. Tese de doutorado. Pág. 88-85, 2017.

GADIOLI, I.L.; Cunha, MSB; DE CARVALHO, M; Costa, A. M.; PINELI, L. A systematic review on phenolic compounds in *Passiflora* plants: Exploring biodiversity for food, nutrition, and popular medicine. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, p. 785-807, 2016.

GLÓRIA, M.B.A. Bioactive amines. In: HUI, H.; NOLLET, L.L. (Ed.) Handbook of Food Science, Technology and Engineering. Taylor & Francis, v. 1, p. 1-38, 2005.

GUIMARÃES, T; DIANESE, A; OLIVEIRA, CH; MELO, J; FALEIRO, F; VILELA, N; CAVALCANTE, H; AZEVEDO, G. Recomendações Técnicas para o Cultivo de *Passiflora* setacea e cv. BRS Pérola do Cerrado. Comunicado técnico 174, Embrapa Cerrados, 2013

HALÁSZ, A.; BARÁTH; A.; SIMON-SARKADI, L; HOLZAPFEL, W. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. Trends in Food Science and Technology. p. 42-49, 1994.

HARBORNE, J. B. General procedures and measurement of total phenolics. in J. B. HARBORNE (ED.). *Methods in plant biochemistry: volume 1 plant phenolics*. p. 1-28, 1989.

HARBORNE, J. B., BAXTER, H., & MOSS, G. P. (EDS.). *Phytochemical dictionary: handbook of bioactive compounds from plants*, 1999.

HARTMANN, A.; PATZ, C.; ANDLAUER, W.; DIETRICH, H.; LUDWIG, M. Influence of Processing on Quality Parameters of Strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. p. 9484–9489, 2006.

HOFFMANN, J.; ZANDONÁ, G.; SILVEIRA DOS SANTOS, P.; DALLMANN, C.; MADRUGA, F.; ROMBALDI, C.; CHAVES, F. Stability of bioactive compounds in Butiá (*Butia odorata*) fruit pulp and néctar. *Food Chemistry*. p. 638;644, 2017.

IFST. *Shelf Life of Foods – Guidelines for its Determination and Prediction*. London: Institute of Food Science & Technology, 1993.

IPPA – INTERNATIONAL PECTIN PRODUCERS ASSOCIATION. What is pectin? Disponível em: <www.ippa.info/what_is_pectin.htm>. Acesso: 23 setembro 2019

JACQUES, A. C. Estabilidade de compostos bioativos em polpa congelada de amora-preta (*rubus fruticosus*) cv.tupy. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Faculdade de Agronomia. Universidade Federal de Pelotas. p.60, 2009.

KALAČ, P.; DADÁKOVÁ, E; PELIKÁNOVÁ, T. Content of biogenic amines and polyamines in some species of European wild-growing edible mushrooms. *European Food Research Technology*, 2009.

KILCAST, D.; SUBRAMANIAM, P. *The stability and shelf-life of food*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge. p. 1-12, 2000.

KIMBALL, D.A. *Citrus processing quality control and technology*. New York; Chapman & Hall-ITP, 1991.

LI, S.; CHEN, G.; ZHANG, C.; WU, M.; WU, S.; LIU, Q. Research progress of natural antioxidants in foods for the treatment of diseases. *Food Science and Human Wellness*, in press, 2014.

LITTARRU, G. Biomedical and clinical aspects of coenzyme Q. *International Journal of Molecular Medicine*. p. 587 e 588, 1993.

LIU, F.; WANG, Y.; LI, R.; BI, X.; LIAO, X. Effects of high hydrostatic pressure and high temperature short time on antioxidant activity, antioxidant compounds and color of mango nectars. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2013.

MACHADO, I. Produção de Polpa de Fruta Congelada e Suco de Frutas. Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro REDETEC, 2006.

MANUNZA, B.; DEIANA, S.; GESSA, C. Molecular dynamics of pectic substances. *Molecular Dynamics. From Classical to Quantum Methods Theoretical and Computational Chemistry*, v. 7, p. 899 – 929, 1999.

MARÁKOVÁA, K; PIEŠT'ANSK'Y, J; ZELINKOVÁC, Z; MIKUŠ, P. Simultaneous determination of twelve biogenic amines in humanurine as potential biomarkers of inflammatory bowel diseases bycapillary electrophoresis – tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 186, 2020.

MAMEDE, M. E. O.; PASTORE, G. M. Compostos fenólicos do vinho: estrutura e ação antioxidante. *B. Ceppa*, v. 22, n. 2, p. 233-252, 2004.

MAY, J. Is ascorbic acid an antioxidant for the plasma membrane. *FASEB Journal*. p. 995, 1999.

MEDEIROS, S.A.F.; YAMANISHI, O.K.; PEIXOTO, J.R.; PIRES, M.C.; RIBEIRO, J.G.B.L.; JUNQUEIRA, N.T.V. Caracterização físico-química de genótipos de maracujá-roxo e maracujá-amarelo cultivados no Distrito Federal. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISAS EM MARACUJAZEIRO, 4, 2005, Planaltina. Trabalhos apresentados ... Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. p. 147-15, 2005.

MINIM, V e SILVA, R. Análise Sensorial Descritiva. Universidade Federal de Viçosa. P. 13-14, 2016.

MINISCI, F. Free radicals in biology and environment, springer, Netherlands, 1997.

MIRANDA, C. COMPOSTOS BIOATIVOS DO MARACUJÁ COBRA (*Passiflora Trintae*). Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro, UBERABA – MG. p. 18, 2015.

MIRANDA, C. COMPOSTOS BIOATIVOS DO MARACUJÁ COBRA (*Passiflora trintae*). Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro, UBERABA – MG. p. 18, 2015.

MOURA, S.C.S.R.; BERBARI, S.A.; GERMER, S.P.M.; ALMEIDA, M.E.M.; FEFIM, D.A. Determinação da vida-de-prateleira de maçã-passa por testes acelerados. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.27, n.1, p.141- 148, 2007.

MUÑOZ-ESPARZA, N.C., LATORRE-MORATALLA, M.K., COMAS-BASTÉ, O., TORO-FUNES, N., VECIANA-NOGUÉS, M.T., VIDAL-CAROU, M. Polyamines in Food. *Frontiers in Nutrition*, 6, 108, 2019.

NASCIMENTO, T. B. Qualidade do maracujá-amarelo produzido em diferentes épocas no sul de Minas Gerais. Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. p. 56, 1996.

NELSON, W. Accelerated Testing. Statistical Models, Test Plans and Data Analyses. John Wiley & Sons, New York, 1990.

NEPA. Tabela brasileira de composição de alimentos. UNICAMP. – Campinas: NEPA-UNICAMP. p. 42, 2004.

OLIVEIRA, J.C. DE; RUGGIERO, C. Espécies de maracujá com potencial agrônômico. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados. cap. 6, p. 143-158., 2005.

OLIVEIRA, J.C. DE; RUGGIERO, C. Espécies de maracujá com potencial agrônômico. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina: Embrapa Cerrados. cap. 6, p. 143-158., 2005.

O'SULLIVAN, M. A Handbook for Sensory and Consumer-Driven New Product Development. Chapter 6. Shelf Life and Sensory Quality of Foods and Beverages. Woodhead Publishing. P. 105-119, 2016.

OZDAL, T., CAPANOGLU, E; ALTAY, F. A review on protein–phenolic interactions and associated changes. Food Research International, 51 (2), p. 954–970, 2013.

PEREIRA, R. Ácido Ascórbico- Características, mecanismos de atuação e aplicações na indústria de Alimentos. Trabalho acadêmico apresentado ao curso de Bacharelado em Química de Alimentos Universidade Federal de Pelotas. p. 39, 2008.

PHAM-HUY, L.; HE H.; PHAM-HUY, C. Free radicals, antioxidants in disease and health, International Journal of Biomedical. p.89, 2008.

PINELI, L.D., RODRIGUES, J.D., COSTA, A.M., DE LIMA, H.C., CHIARELLO, M.D., MELO, L. Antioxidants and sensory properties of the infusions of wild *passiflora* from Brazilian savannah: potential as functional beverages. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2014.

PIRES, M.M.; MATA, H.T.C. Uma abordagem econômica e mercadológica para a cultura do maracujá no Brasil. In: Maracujá: produção e qualidade na passicultura, 2004.

RAIMUNDO, K. et al. Avaliação física e química da polpa de maracujá congelada comercializada na região de Bauru. Rev. Bras. Frutic. vol. 31 (2) Jaboticabal, 2009.

RAMOS-MOLINA, B., QUEIPO-ORTUNO, M.I., LAMBERTOS, A., TINAHONES, F.J.; PEÑAFIEL, R. Dietary and gut microbiota polyamines in obesity- and age- related diseases. Frontiers in Nutrition, 6 (24), 2019.

ROBERFROID, M.B. Functional food concept and its application to prebiotics. Digestive and Liver Disease. p. 105-110, 2002.

ROKKA, M.; EEROLA, M.; SMOLANDER, M.; ALAKOMI, H.; AHVENAINEM, R. Monitoring of the quality of modified atmosphere packaged broiler chicken cuts stored in different temperature conditions b. biogenic amines as quality-indicating metabolites. Food Control. p. 601-607, 2004.

ROCHA, W.; LOPES, R.; SILVA, D.; VIEIRA, R. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 33, n. 4, p.1215-1221, 2011.

ROSENTHAL, A.; MATTA, V. M.; CABRAL, L, M. C.; FURTADO, A. A. L. Processo de produção. In: *Iniciando um pequeno grande negócio agroindustrial: polpa e suco de frutas*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica: Embrapa Hortaliças: SEBRAE, 2003.

ROSSI, A. D.; Comercialização do maracujá. In: *SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO*, Jaboticabal. Anais... Jaboticabal: FUNEP. p. 279-290, 1998.

ROUSE, A.H.; ATKINS, C.D. Heat inactivation of pectinesterase in citrus juice. *Food Technology*, v.6, n.8, p. 291-294, 1952.

SAEEDUDDIN, M.; ABID, M.; JABBAR, S.; WU, T.; HASHIM, M.; AWAD, F.; HU, B.; LEI, S.; ZENG, W. Quality assessment of pear juice under ultrasound and commercial pasteurization processing conditions. *LWT - Food Science and Technology*. P. 452-458, 2015.

SANDOVAL, A. Estresse oxidativo metabólico e doenças crônicas não-transmissíveis uma proposta de estilo de vida. Disponível: MedicinaNET, http://www.medicinanet.com.br/conteudos/revisoes/5991/estresse_oxidativo_metabolico_e_doencas_cronicas_ao_transmissiveis_uma_proposta_de_estilo_de_vida.htm. Acesso: 1 novembro 2019.

SANTIAGO-SILVA, P.; LABANCA, R.A.; GLÓRIA, M.B.A. Functional potential of tropical fruits with respect to free bioactive amines. *Food Research International*, v. 44, p. 1264-1268, 2011.

SANTOS, F.C.; RAMOS, J.D.; SANTOS, F.C.; LIMA, L.C.O.; JUNQUEIRA, K.P.; REZENDE, J.C. Características físico-químicas do maracujazeiro silvestre *Passiflora setacea*. In: *REUNIÃO TÉCNICA DE PESQUISAS EM MARACUJAZEIRO*, 4, 2005, Planaltina. Trabalhos apresentados, Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. p. 143-146, 2005.

SILA-SANTOS, M.H. Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Microbiology*, v. 29, n. 2/3, p. 213-231, 1996.

SILVA, C. P.; SILVA-ALMEIDA, M. F. O uso medicinal do maracujá. In: A cultura do maracujazeiro. LACERDA, V. (ed); Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.21, n.206, p.86-88, 2000.

STARLING, M.F.V. Perfil e teores de amins biogênicas em algumas hortaliças. Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos, Universidade de Minas Gerais, Belo Horizonte. p.72, 1998.

SU, D.; WANG, Z.; DONG, L.; HUANG, F.; ZHANG, R.; JIANG, X. Impact of thermal processing and storage temperature on the phenolic profile and antioxidant activity of different varieties of lychee juice. LWT - Food Science and Technology, 2019.

SUNTORNUSUK, L.; GRITSANAPUN, W.; NILKAMHANK, S.; PAOCHOM, A. Quantification of vitamin C content in herbal juice using direct titration. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 28, p. 849-855, 2002.

TEIXEIRA NETO, R.O.; VITALI, A.A.; MOURA, S.C.S.R. Introdução à cinética de reação em alimentos. In: MOURA, S.C.S.R.; GERMER, S.P.M. Reações de transformação e vida-de-prateleira de alimentos processados. 3.ed. Campinas: ITAL, cap.3, p.75-81, 2004.

TEMBO, D.; HOLMES, M.; MARSHALL, L. Effect of thermal treatment and storage on bioactive compounds, organic acids and antioxidant activity of baobab fruit (*Adansonia digitata*) pulp from Malawi. Journal of Food Composition and Analysis. P. 40-51, 2017.

TOFALO, R., PERPETUINI, G., SCHIRONE, M.; SUZZI, G. Biogenic amines: toxicology and health effect. Encyclopedia of Food and Health, p. 424–429, 2016.

TSAO, R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients. 2, p. 1231–1246, 2010.

UENOJO, M.; PASTORE, G. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. Química Nova, V 30 (2), p. 388,394, 2007.

VALERO, D.; MARTÍNEZ-ROMERO, D.; SERRANO, M. The role of polyamines in the improvement of shelf life of fruit. Trends in Food Science and Technology, v. 13, p. 228-234, 2002.

VALENTIN, D., CHOLLET, S., LELIÈVRE, M. E ABDI, H. Quick and dirty but still pretty good: a review of new descriptive methods in food science. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 1563-1578, 2012.

VERSTEEG, C.; ROMBOUITS, F.M.; SPAANSEN, C.H.; PILNIK, W. Thermostability and orange juice cloud destabilizing properties of multiple pectinesterases form orange. *Journal of Food Science*, v.45, p.9690-9697, 1980.

VIEIRA, G. P. Compostos Fenólicos, Capacidade Antioxidante E Alcaloides Em Folhas E Frutos (Pericarpo, Polpa E Sementes) De *Passifloras Spp.* Master of Science, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

VITALI, A. A.; TEIXEIRA NETO, R. O.; GERMER, S. P. M. Testes Acelerados de vida-de-prateleira de alimentos. In: REAÇÕES DE TRANSFORMAÇÃO E VIDA-DE-PRATELEIRA DE ALIMENTOS PROCESSADOS. Moura, S. C. S. R.; Germer, S. P. M. Campinas: ITAL. 3ª ed. p. 75-92, (Manual Técnico nº 6), 2004.

WATERMAS, K.; ADAMI, R. Accelerated aging: Prediction of chemical stability of pharmaceuticals. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 293, p. 101;125, 2005.

WILLIAMS, R.; BAUGHAN, E.; WILLSON, R. The necessary and the desirable production of radicals in biology. *Philosophical transactions of the royal society B*. p. 93 e 603, 1985.

WRIGHT, B.B.; TAUB, I.A. Stored product quality: Open dating and temperature monitoring. In: FOOD STORAGE STABILITY. Taub, I. A.; Singh, R. P. (eds.). Boca Raton: CRC Press, p. 353-368, 1997.

YEHYE, W.; RAHMAN, N.; ARIFFIN, A.; HAMID, SH.; ALHADI, A.; KADIR, F.; YAEGHOABI, M. Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT): a review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. p. 296-298, 2015.

YILMAZ, C.; GÖKMEN, V. Neuroactive compounds in foods: Occurrence, mechanism and potential health effects. *Food Research International*, 128, p. 1–23, 2020.

ZENEBON, O.; PASCUER, N. S.; TIGLEA, P. Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo), 2008.

CAPÍTULO 2 - HIPÓTESE, OBJETIVOS, MATERIAL E MÉTODO DE PESQUISA

O presente capítulo tem como propósito definir a hipótese da pesquisa e os objetivos; finalmente se podem encontrar os materiais e métodos empregados no trabalho. Nos anexos encontram-se os protocolos utilizados durante as análises.

2.1 HIPÓTESE DA PESQUISA

Os binômios T/t utilizados na pasteurização rápida e lenta, deterioram a qualidade nutricional, funcional e sensorial da polpa de *Passiflora setacea* e a vida de prateleira aumenta ao submeter as polpas ao tratamento térmico.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivos Geral

Avaliar o efeito do processamento térmico e do armazenamento da polpa de *P. setacea* sobre as suas características químicas, funcionais, físicas, microbiológicas e sensoriais.

2.2.2 Objetivos Específicos

- Determinar na primeira etapa a inativação da enzima pectinesterase em diferentes binômios de pasteurização da polpa de *P. setacea*;
- Determinar o efeito do processamento térmico dos binômios escolhidos na primeira etapa sobre a carga microbiana, cor, o perfil de flavonoides, aminas bioativas, vitamina C, atividade antioxidante *in vitro* e a qualidade sensorial da polpa da *P. setacea*;
- Determinar a vida de prateleira por meio de teste acelerado da polpa de *P. setacea* processada em um binômio de Temperatura/tempo (T/t) selecionado na segunda etapa.

2.3 Materiais e Métodos

A polpa de *P. setacea* foi fornecida pela Embrapa Cerrados, o plantio foi realizado no pomar da Fazenda Experimental da Embrapa Cerrados, BR 020 Km 18, Planaltina, Brasília, DF (15°36'13.02"S; 47°43'17.34" O), com uma altitude aproximada de 1.050 m. O clima da região é do tipo AW, caracterizado por chuvas concentradas no verão, de outubro a abril, e invernos secos, de maio a setembro.

O cultivo foi conduzido em espaldeiras em duas linhas com 15 plantas, no espaçamento 2,5 m entre linhas e 2,5 m entre plantas. Os frutos foram obtidos da safra do período seco de 2016.

Em relação à adubação foi feita adubação de plantio com Calcário dolomítico para elevar V para 50% e matéria orgânica (tipo: cama de frango 10 L/cova) (Tabela 4) e para a adubação de cobertura foi utilizada a mistura de uma parte de cloreto de potássio e duas de Sulfato de Amônia, 100 g da mistura por planta a cada 45 dias e uma adubação de reposição com micronutrientes a cada 6 meses.

Tabela 1. Adubação de plantio de *Passiflora Setacea*.

Composto	Quantidade (g/cova)
P (super simples)	250
N (Sulfato de amônia)	100
K (Cloreto de potássio)	100
FTE BR12	100

Fonte: EMBRAPA, 2016.

O trabalho foi conduzido em três etapas. Na primeira etapa, foram selecionados os binômios de temperatura e tempo da pasteurização que apresentassem maior porcentagem de inativação da enzima pectinesterase, ou seja, uma maior estabilidade física ao suco preparado com a polpa, e ao tempo promovesse também um alto teor de fenólicos totais e uma alta atividade antioxidante. Na literatura não se encontra evidência do emprego de temperaturas similares a 63 ° C, 72 ° C, 77 ° C nos processos de pasteurização quando o único objetivo é a inativação da enzima sem ser levado em consideração a retenção de compostos bioativos das frutas. Na segunda etapa, a polpa foi pasteurizada, em triplicata, nos binômios selecionados na primeira etapa (82 ° C/ 20 s, 82 ° C/ 40 s, 63 ° C/ 30 min) e foram determinados os efeitos dos tratamentos térmicos sobre a redução da carga microbiana, as propriedades antioxidantes, nutricionais e sensoriais da polpa. Na terceira etapa, foram determinados os efeitos do tratamento térmico por meio do binômio 82 ° C/ 40 s e realizados testes acelerados nas temperaturas de 25 ° C, 35 ° C e 45 ° C durante 12 dias, foram analisados a redução na carga microbiana, na atividade antioxidante pelos métodos ORAC e FRAP, no perfil de flavonoides, vitamina C e análises sensorial, com o fim de determinar a vida de prateleira da polpa pasteurizada.

2.3.1. Etapa 1: Pasteurização da polpa de *P. setacea*, determinação da atividade antioxidante, do teor de fenólicos totais, da inativação da pectinesterase, da estabilidade física e seleção dos melhores binômios.

A adequação de a polpa foi feita e EMBRAPA cerrados, dentro das normas estipulas de boas práticas de fabricação. Inicialmente foi realizada uma limpeza para retirar as sujeiras mais grosseiras dos frutos com esponja de espuma e detergente neutro (próprio para alimentos). Posteriormente, os frutos foram sanitizados para evitar contaminação durante a retirada da polpa em imersão por 10 min em solução clorada (100 mg/L). Posteriormente, foi obtida a polpa da fruta por meio de uma despulpadora (mundinox) e, em seguida, congelada a -18 °C (Figura 1).

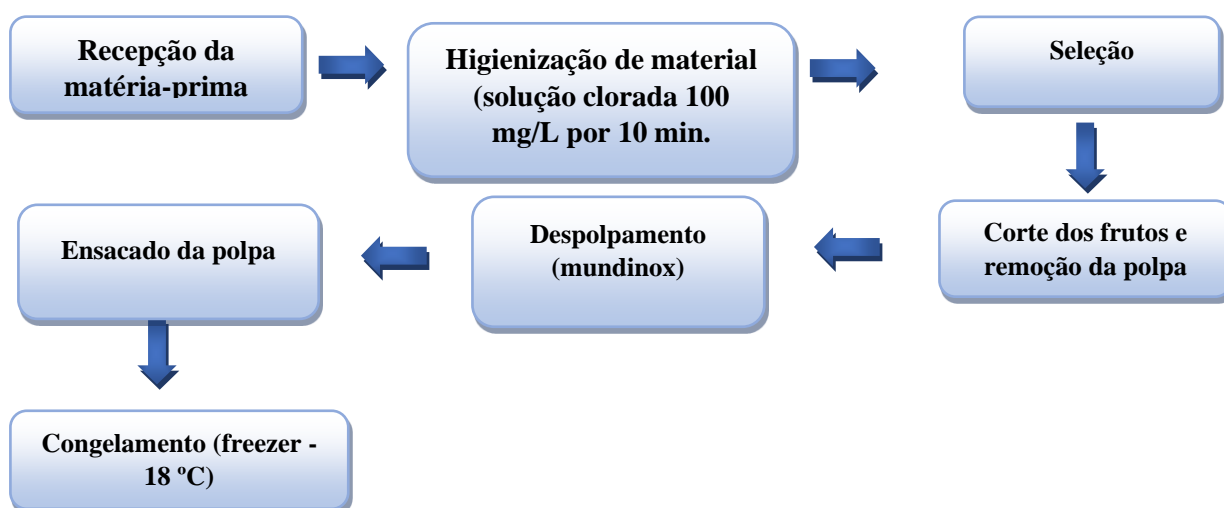


Figura 1. Fluxograma de obtenção da polpa de *P. setacea*.

Os tratamentos de pasteurização rápida, nesta primeira etapa de seleção dos binômios, foram realizados em uma única repetição; assim, as variáveis tempo e temperatura foram ajustadas para não permitir erros sistemáticos.

Os tempos de pasteurização foram determinados em 4 temperaturas (63 °C, 72 °C, 77 °C e 82 °C) em 5 tempos 20 s, 40 s, 75 s, 5 min e 30 min, após as polpas foram resfriadas até 6 °C a 8 °C, embaladas em sachê de 100 g e congeladas a -80 °C até o dia do análises (1 semana), as polpas fora descongeladas numa vazia no abrigo da luz.

2.3.2 Etapa 2: Efeito do processo térmico nas propriedades nutricionais, antioxidantes e sensoriais da polpa de *Passiflora setacea*.

As análises foram realizadas no Laboratório de Ciência dos Alimentos (NUT-UnB), no Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Católica de Brasília e no Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos do CPAC. O perfil de amins bioativas foi determinado no laboratório de Bioquímica de Alimentos (UFMG). A Análise sensorial das polpas foi realizada no laboratório de técnica dietética, localizado na Faculdade de Ciência da Saúde da Universidade de Brasília, o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

Nesta etapa foram avaliados os efeitos dos binômios tempo/temperatura determinados no experimento anterior sobre características nutricionais, antioxidantes e sensoriais da polpa, com vistas a selecionar um binômio que assegure a qualidade do produto com a maior retenção possível dos compostos bioativos de interesse na *Passiflora setacea*.

As polpas foram pasteurizadas nas condições obtidas e foram avaliadas quanto à cor por colorímetro (Minolta CR 400, Minolta Corporation), análise microbiológica de coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella* sp. (ANVISA, 2001), mesófilos totais e bolores e leveduras, teor de compostos fenólicos, perfil de flavonoides, teor de vitamina C, amins bioativas, atividade antioxidante por ORAC, FRAP, DPPH, além de aceitação com escala hedônica estruturada de 9 pontos e avaliação sensorial descritiva pelo método *Check-all-that-apply*.

A unidade experimental foi um sachê de plástico de 100 g de polpa embalado e as análises instrumentais foram realizadas em triplicata. Os dados foram analisados por ANOVA ($p < 0,05$) e se significativo teste de comparação de médias de Tukey ($p < 0,05$) foi aplicado. A polpa não pasteurizada foi usada como controle.

2.3.3 Etapa 3: Determinação da vida de prateleira do suco de *P. setacea* submetido ao processo de pasteurização.

Polpas de *P. setacea* pasteurizadas sob o binômio 82 °C /40 s foram armazenadas em câmaras nas temperaturas de 0 °C (controle), 25 °C, 35 °C e 45 °C com base na proposição de VITALI et al. (2004) para realização de Testes Acelerados de Vida-de-Prateleira (TAVP) por 12 dias, sendo as amostras avaliadas a cada 2 dias quanto às variáveis microbiológicas (coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp., mesófilos totais, bolores e leveduras), sensorial (aceitação global), atividade antioxidante pelos métodos ORAC e FRAP, perfil de flavonoides

e vitamina C. Os dados foram avaliados por meio de modelos cinéticos, usando-se a regressão linear das curvas nas diferentes temperaturas e comparados por ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$).

2.3.4 Pasteurização da polpa

A pasteurização da polpa ocorreu no Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Embrapa Cerrados com o protótipo desenvolvido pela pesquisadora em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Embrapa Cerrados Dra. Sônia Maria Costa Celestino. A polpa foi descongelada e pasteurizada no sistema rápido representado na Figura 2, nas temperaturas de 72 °C, 77 °C e 82 °C, e nos tempos de 20 s, 40 s e 75 s. O sistema foi constituído por três estágios aquecimento, retenção de temperatura e resfriamento.

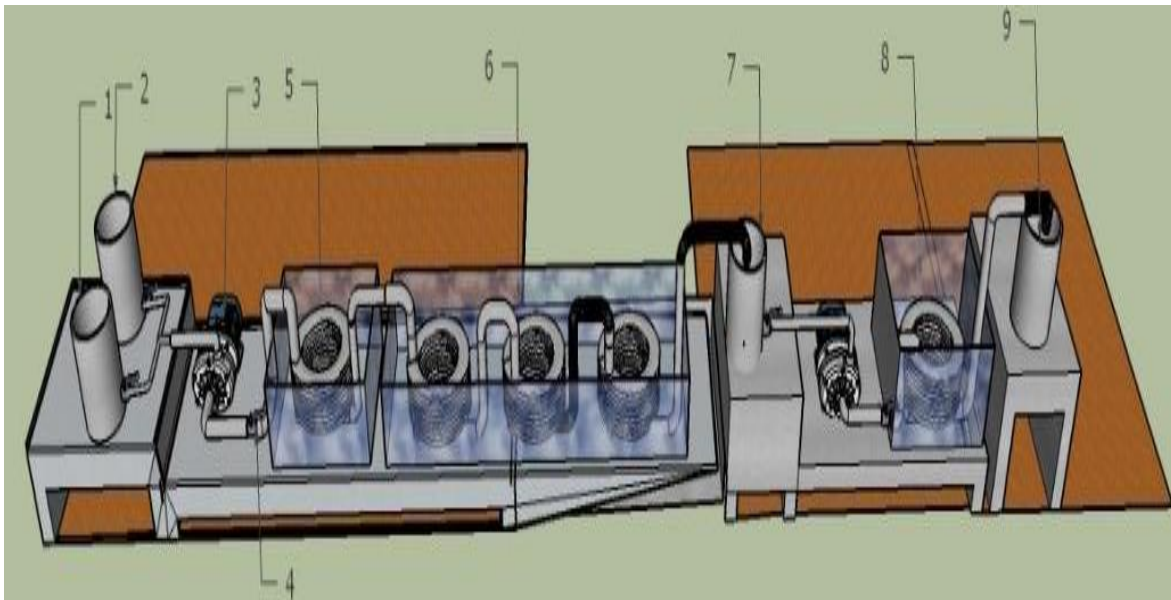


Figura 2. Sistema de pasteurização rápida com três estágios

1: Água quente, 2: polpa, 3: Bomba centrífuga, 4: válvula esférica, 5: estágio de aquecimento (óleo quente), 6: estágio manutenção de temperatura (água quente), 7: Polpa pasteurizada, 8: estágio de resfriamento (água + álcool), 9: Polpa resfriada.

Fonte: Elaboração de autor, 2018.

Dois litros de polpa a 25 °C foram colocados no recipiente. Água quente a 55 °C foi colocada em um segundo recipiente, que foi utilizada para a estabilização da vazão do sistema antes da abertura da válvula do recipiente que continha a polpa. Ambos os recipientes foram colocados acima da bomba para esta pudesse trabalhar “afogada”.

A polpa foi bombeada e entrou no estágio de aquecimento, onde circulou em um *chiller* cilíndrico de 9 m de comprimento na forma de serpentina e 0,6 cm de diâmetro interno a uma

vazão de saída de 33,3mL/s, sendo o tempo de residência de 7 s. A temperatura do banho de óleo, onde o *chiller* estava mergulhado, e a respectiva temperatura da polpa na saída do estágio de aquecimento estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Temperatura do banho de óleo e a correspondente temperatura da polpa na saída do estágio de aquecimento

Temperatura banho de óleo (°C)	Temperatura da polpa (°C)
215	72
220	77
230	82

Após sair do estágio de aquecimento, a polpa entrou imediatamente no estágio de manutenção de temperatura, sendo constituído por um banho de água e *chillers* cilíndricos na forma de serpentina de 0,6 cm de diâmetro interno. O tempo de permanência (tempo de pasteurização) da polpa no banho variou de acordo com o comprimento dos *chillers* utilizados.

A Tabela 3 apresenta os valores de comprimento dos *chillers* e a vazão na saída deste equipamento, temperatura do banho de água (temperatura de pasteurização) e tempo de permanência (Figura 2).

Tabela 3. Comprimento e vazão na saída do *chiller*, temperatura de pasteurização e tempo de pasteurização no estágio de manutenção de temperatura

Comprimento do <i>chiller</i> (m)	Vazão na saída do <i>chiller</i> (mL/s)	Temperatura da pasteurização (°C)	Tempo de pasteurização (s)
15	21,3	72	20
25	17,8	72	40
34	12,8	72	75
15	21,3	77	20
25	17,8	77	40
34	12,8	77	75
15	21,3	82	20
25	17,8	82	40
34	12,8	82	75

Após a pasteurização, a polpa foi imediatamente resfriada no terceiro estágio (estágio de resfriamento). A polpa pasteurizada foi bombeada para o interior de um *chiller* cilíndrico na forma de serpentina de 15 m, o qual estava mergulhado numa solução aquosa de álcool com concentração 40 % (v/v) a -5 °C. A vazão na saída do *chiller* foi de 9 mL/s, sendo o tempo de

resfriamento de 47 s. A temperatura de saída da polpa desse estágio variou de 6 °C a 8 °C. O sistema foi todo sanitizado com ácido peracético a 3 % (v/v) antes e depois das operações.

Outros três tratamentos de pasteurização foram realizados a 72 °C, 77 °C e 82 °C durante 300 s. No entanto, devido ao maior tempo de pasteurização, ficou inviável a utilização do sistema rápido de pasteurização; assim, a polpa foi aquecida em recipiente sobre chama a gás, sua temperatura controlada durante 300 s e imediatamente resfriada no terceiro estágio do sistema de pasteurização conforme descrito anteriormente.

A polpa também foi submetida à uma pasteurização lenta a 65 °C durante 30 min, sendo também aquecida em recipiente sobre chama a gás, sua temperatura controlada durante 30 min e imediatamente resfriada no terceiro estágio do sistema de pasteurização conforme descrito anteriormente.

Logo, treze tratamentos de pasteurização da polpa de BRS Pérola do Cerrado foram realizados.

2.3.5 Atividade antioxidante

Obtenção dos extratos das polpas pasteurizadas

Para a obtenção do extrato, pesaram-se 10 g de amostra, adicionaram-se 40 mL de metanol 50% (metanol: água destilada, 50:50, v/v), homogeneizou-se e deixou em repouso por 60 min, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Centrifugou-se em equipamento BOECO-U320-R com um rotor de 99 mm de rádio a 15.000 rpm durante 20 min, recolheu-se o sobrenadante 1 em um balão volumétrico de 100 mL. A partir do resíduo da primeira extração, adicionaram-se 40 mL de acetona 70% (Acetona: água destilada, 70:30, v/v), e repetiu-se o processo anterior, ou seja, homogeneizou-se e deixou em repouso por 60 min, à temperatura ambiente (20 °C) e ao abrigo da luz. Centrifugou-se novamente a 15.000 rpm durante 20 min, recolheu-se o sobrenadante 2 e juntou-se ao sobrenadante 1 no balão volumétrico e completou-se para 100 mL com água destilada (LARRAURI et al., 1997).

Determinação da atividade antioxidante total (AAT)

A atividade antioxidante total foi determinada pela redução do radical EC₅₀ (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) (BRAND-WILIAMS et al., 1995) pelas moléculas antioxidantes dos compostos bioativos presentes na polpa de BRS Pérola do Cerrado, resultando num decréscimo da absorvância medida a 515 nm.

A partir do extrato obtido no item anterior, prepararam-se em balões de 10 mL, cinco diluições diferentes, com 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mL de extrato, completando o volume de 10 mL com álcool metílico. As diluições obtidas foram de 50.000; 100.000; 200.000; 300.000 e 400.000 mg de extrato/L. Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 1,0 mL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio com 3,0 mL de solução do radical EC₅₀ a 0,06 mM e homogeneizou-se em agitador de tubos. As leituras das absorvâncias a 515 nm das diluições foram monitoradas a cada minuto, sendo observada a redução da absorvância até sua estabilização no equipamento Spectamax M de Versamax. O valor final após a estabilização foi anotado. O branco foi constituído por 1,0 mL de metanol e 3,0 mL de solução de EC₅₀. A atividade antioxidante total (EC₅₀) foi expressa de acordo com a Equação 1.

$$EC_{50} = \frac{abs. controle - abs. amostra}{abs. controle} * 100 \quad (1)$$

Com os valores obtidos foi construído um gráfico de percentual de Redução de EC₅₀ (% Redução de EC₅₀) versus Concentração em “g extrato/L”. Para o cálculo do EC₅₀ foi utilizada a equação da reta, substituindo o valor de y (% Redução de EC₅₀) por 50 para obtenção da concentração do extrato com capacidade de reduzir em 50% os radicais EC₅₀.

2.3.6 Determinação de compostos fenólicos totais

Os extratos da polpa foram obtidos de acordo com o método proposto por Larrauri et al. (1997), os quais foram usados para a determinação de atividade antioxidante. As análises foram realizadas em triplicata.

A curva padrão foi obtida a partir de seis diluições com 0, 10, 20, 30, 40 e 50 µg/µL de ácido gálico, foram adicionados 1 mL de Folin Ciocalteau (1:3), 2 mL de carbonato de sódio com uma concentração de 20% (m/v) e 2 mL de água destilada, homogeneizou-se em agitador de tubos e após deixou-se em repouso por 30 min em ambiente escuro. As leituras das absorvâncias foram feitas em triplicata a 700 nm, com os valores obtidos foi construída a curva padrão para obter a equação da reta.

Em tubos de ensaio foram adicionados 1 mL de extrato, 1 mL de reagente Folin Ciocalteau (1:3), 2 mL de carbonato de sódio 20% e 2 mL de água destilada, homogeneizou-se em agitador de tubos e após deixou-se em repouso por 30 min em ambiente escuro. Os ensaios

foram realizados em triplicata em ambiente escuro. As leituras das absorvâncias foram feitas em espectrofotômetro a 700 nm. O branco da leitura foi um 1 mL de água destilada com os reagentes acima citados. O valor de fenólicos totais foi determinado por mg/100g.

2.3.7 Atividade enzimática

A análise de atividade enzimática foi determinada, em triplicata, de acordo com o método proposto por Rouse e Atkins (1953) em duplicata, utilizando-se o potenciômetro pH-orion star A211 da Thermo Fisher Scientific. Foram utilizados 4 mL de polpa em 40 mL de solução aquosa de pectina de maçã a 0,1% v/v (Sigma-P8471, com grau de metoxilação de 72%, pH 7 e temperatura de 33 °C. O pH da mistura foi medido a cada 5 min até estabilização em 40 min. A atividade de pectinesterase foi obtida pela diferença entre o pH inicial e pH no tempo de 40 min, sendo 0,01 de redução equivalente a 1U. O valor da atividade enzimática foi determinado como U/mL de polpa. A atividade remanescente da pectinesterase foi obtida pela Equação 2.

$$A. \text{ Remanescente} = \frac{ati. 40}{ati. 0} * 100 \quad (2)$$

Em que,

Ati₄₀ = pH após de 40 min

Ati₀ = pH inicial.

2.3.8 Estabilidade física

Amostras do suco *in natura* e pasteurizados foram preparados em proporção na 33:67 polpa : água v/v, sendo posteriormente submetidas a ensaios de sedimentação. Para a medida da estabilidade física do suco foi utilizado método semelhante ao de Godoy et al. (1998). Amostras de 25 mL de suco foram colocadas em tubos de plástico com tampa de 45 mL e iluminadas por uma lâmpada fria, foram deixados em repouso por 24 h, às amostras foi adicionada pequenas quantidades de formol, sendo os ensaios realizados à temperatura ambiente e em triplicata. Foi medida o volume de clarificado observado nos tubos.

2.4. Etapa 2: Efeitos dos tratamentos térmicos por meio dos binômios selecionados na primeira etapa sobre a redução da carga microbiana, as propriedades antioxidantes, as nutricionais e as sensoriais da polpa.

A polpa foi obtida como apresentado no Item 4.1, uma vez escolhidos os melhores binômios da etapa anterior, as popas foram submetidas a pasteurização lenta (63 ° C durante 30 min) e pasteurização rápida (82 ° C, durante 20 s e 40 s, em triplicata, no mesmo sistema de pasteurização rápida utilizado na Etapa 1. As análises ocorreram no laboratório de ciência dos alimentos (NUT-UnB), no laboratório de ciência e tecnologia de alimentos da Universidade Católica de Brasília e no laboratório de ciência e tecnologia de alimentos da Embrapa Cerrados.

A análise sensorial das polpas foi realizada no laboratório de técnica dietética, localizado na Faculdade de Ciência da Saúde da Universidade de Brasília. A unidade experimental foi um sachê de 100 g de polpa embalado e as análises instrumentais foram realizadas em triplicata, determinando-se a cor, a atividade antioxidante pelos métodos DPPH, FRAP e ORAC, teor de fenólicos totais, vitamina C perfil de flavonoides, aminas bioativas e análises sensorial pelos métodos de aceitação e CATA.

Os dados foram analisados por ANOVA ($p < 0,05$) e o teste de comparação de médias de Tukey ($p < 0,05$) foi aplicado. Polpa não pasteurizada foi utilizada como controle.

2.4.1. Determinação de carga microbiana no suco de *P. setacea* pasteurizada

Análises microbiológicas foram realizadas para polpas IN e polpas pasteurizadas nos binômios selecionados para garantir um alimento seguro. Fungos filamentosos, leveduras, mesófilos aeróbicos, coliformes totais e termotolerantes e *Salmonella* spp. foram analisados. Foram realizadas diluições decimais.

Ágar Padrão para Contagem (PCA) para contagem de mesófilos aeróbios e espalhadas com alça de Drigalski. As amostras foram incubadas a 35 °C por 48 h.

Contagem de coliformes totais e de coliformes termotolerantes: Alíquotas de 1 mL foram transferidas para séries de três tubos com 10 mL Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e tubos de Durham, incubados a 35 °C por 48 h (teste presuntivo).

Contagem de Fungos filamentosos e Leveduras: Alíquotas de 0,1 mL foram transferidas para placas com Ágar Dicloran Glicerol 18 e espalhadas com alça de Drigalski. As amostras foram incubadas a 25 °C, por 5 dias.

Deteção de *Salmonella* sp.: Foi tomado 25 mL de amostras e homogeneizadas em 225 mL de Caldo de Pré- enriquecimento (peptona 1%) e incubados a 35 °C por 24 h. Após, foi transferido 1 mL para um tubo de ensaio com 10 mL do Caldo Selenito-Cistina (SC) e incubado a 35 °C

por 24 h. Da cultura em SC, foi se estriar uma alçada (estrias de esgotamento) em Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD).

2.4.2. Determinação do efeito do processo térmico nas propriedades nutricionais, antioxidantes e sensoriais da polpa de *Passiflora setacea*.

Determinação da cor da polpa antes e após processos de pasteurização: A avaliação da cor da polpa de *P. setacea* foi realizada com auxílio de um colorímetro (Minolta CR 400, Minolta Corporation, Osaka, Japão). Foram tomados valores de três pontos diferentes da polpa adicionada em um cubeta, para obter os valores de L, a e b, os parâmetros tonalidade (h) Equação 3, croma (C) Equação 4, e índice de escurecimento (BI) Equação 5 e Equação 6 (CASTAÑÓN et al., 1998, FRANCIS, 1975, MASKAN, 2001) foram calculados.

$$h = \arctang(b/a) \tag{3}$$

$$C = \sqrt{(a^2 + b^2)} \tag{4}$$

(5)

$$BI = \frac{[100(x - 0.31)]}{0.17}$$

(6)

$$x = \frac{(a + 1.75L)}{(5.645L + a - 3.012b)}$$

em que:

h = tonalidade da cor;

C = saturação da cor ou croma;

BI=índice de escurecimento;

L = mensurável em termos de intensidade de branco a preto;

a = mensurável em termos de intensidade de vermelho e verde; e

b = mensurável em termos de intensidade de amarelo e azul.

L₀, a₀ e b₀ são as coordenadas obtidas antes da pasteurização da polpa de *P.setacea*.

2.4.3 Análises de compostos antioxidantes

Avaliação do perfil de flavonoides: Os flavonoides foram quantificados de acordo com o método aplicado por Carvalho et al. (2018). Os extratos foram obtidos misturando 5 g de polpa e 10 mL de etanol: solução de água (1: 1). Um mL do extrato foi misturado a 0,2 mL de metanol a 50% com HCl (1,2 N) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ, 0,4 g / L), posteriormente o extrato foi submetido a ultrassom e filtrado através de um filtro millex HV de 0,45 mm. O sistema Shimadzu® HPLC, equipado com uma bomba de alta pressão modelo LC-10AT VP, um amostrador automático modelo detector de matriz de díodos visíveis 10AF e UV modelo SPD-M10A (Shimadzu®, Quioto, Japão) foi usado para separação, identificação e quantificação. Os cromatogramas foram obtidos usando comprimentos de onda de 270, 340 e 380 nm. As fases móveis foram (A) Água: Tetra-hidrofurano: ácido trifluoroacético (99,79: 0,2: 0,01) e (B) acetonitrilo. Para vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina, a corrida foi realizada com 80% A 20% B, com uma vazão de 0,5 mL / minuto por 25 min. Para hesperitina, o fluxo de 0,7 mL / min por 25 min foi utilizado com 70% A, 30% B. A metodologia foi usada tanto para a segunda e terceira etapa, no caso de vida de prateleira não foi possível a determinação da hesperitina (Anexo 5).

2.4.4 Monitoramento da atividade antioxidante

A atividade antioxidante nas polpas foi realizada pelos métodos ORAC, DPHH e FRAP. Método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity): O experimento foi realizado no leitor de fluorescência. A leitura foi realizada a cada 1 min, durante 80 min, com emissão a 520 nm e excitação a 485 nm e temperatura controlada a 37 °C em placa escura.

Método EC₅₀ (2,2-difenil-1-picrilhidrazila): A capacidade de sequestro do radical livre EC₅₀ foi determinada conforme proposto por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), alíquotas de 0,1 mL dos extratos serão adicionadas a 3,9 mL de solução metanólica de EC₅₀ (25 mg/L), e mantidas à temperatura ambiente, ao abrigo da luz, por 120 min. A absorbância das amostras foi determinada a 515 nm, em espectrofotômetro UV/Visível. A curva padrão foi preparada com solução metanólica de Trolox, em diferentes concentrações (50 a 250 mg/L). Os resultados foram expressos em µmol equivalente de Trolox por grama de peso fresco (µmol TE.g⁻¹ PF) (Anexo3).

Método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power): O ensaio da capacidade de redução do íon férrico foi feito de acordo com a técnica descrita por Pulido, Bravo e Saura-Calixto (2000),

o reagente FRAP foi obtido a partir da mistura de tampão acetato (0,3 M, pH 3,6), solução de TPTZ (10 mM) e solução de cloreto férrico (20 mM), em uma proporção de 100:10:10. Alíquotas de 90 μ das amostras foram misturadas com 270 μ L de água e 2,7 mL do reagente FRAP, e a absorbância da mistura foi medida em 595 nm, após incubação a 37°C por 30 minutos. Soluções com concentrações conhecidas de Trolox (104 a 800 μ M) foram utilizadas para construir a curva padrão e auxiliar no cálculo da capacidade antioxidante. Os resultados foram expressos em μ mol equivalente de Trolox por grama de peso fresco (μ mol TE.g⁻¹ PF) (Anexo 4).

2.4.5 Determinação de vitamina C total

O ácido desidroascórbico (DHA) foi quantificado subtraindo-se o valor ascórbico inicial teor de ácido (AA) (antes da conversão do DHA) do teor total de AA (após o DHA conversão para AA). As amostras foram mantidas protegidas da luz, em temperatura ambiente. A análise cromatográfica do ácido ascórbico total foi realizada em HPLC Shimadzu®, equipado com uma bomba de alta pressão modelo LC-10AT VP, um amostrador automático modelo SIL-10AF e detector de matriz de diodo visível UV modelo SPD-M10A (Shimadzu®, Kyoto, Japão). Uma coluna Lichospher 100 RP18, 250 mm, 4 mm, 5 mm (Merck, Alemanha) foi usada com a fase móvel consistindo em sódio monobásico 1 mM fosfato (NaH₂PO₄) e 1 mM de EDTA, pH ajustado para 3,0 com ácido fosfórico (H₃PO₄), em eluição isocrática a uma taxa de fluxo de 1 mL / min. A detecção foi feita a 245nm e ácido ascórbico foi utilizado como padrão, com curva variando de 0 a 100 μ L / mL (De Carvalho et al., 2018) (Anexo 1).

2.4.6 Determinação perfil de aminas bioativas

Todos os extratos foram analisados de acordo com a metodologia descrita por Fiechter, Sivec e Mayer (2013) para a determinação de aminas bioativas, quantificadas por cromatografia líquida. Inicialmente, os extratos foram derivados pela reação de Carbamato de 6-aminoquinolil-N-hidroxissuccinimidil (AQC) usando o Waters Kit AccQ.Fluor® (Waters Corporation, 1993). Uma pré-coluna foi usada para a derivação e depois filtrada através de um filtro de poros de 0 20 μ m (Whatman®, GE Healthcare, UK) 5 μ L do extrato foram neutralizados com 35 μ L de AccQ Fluor® buffer borato e 10 μ L de reagente AQC, finalmente as amostras foram aquecidas a 55 ° C por 10 min em banho-maria para complete a reação de desvio. Os resultados foram expressos em mg / kg. Aminas foram identificados e quantificados

em cromatógrafo líquido de alta eficiência (Waters, Milford, MA, EUA) equipado com um adaptador Acquity[®] detector ultravioleta (TUV) (Waters, Milford, MA, EUA) a 249 nm. Para a separação, foi aplicada a coluna de fase reversa ACLC BEH C18 (2,1 50 mm, 1,7 µm). As fases móveis foram: A) tampão de acetato de sódio 0,1 mol/L em água ultrapura com pH ajustado para 4,8 com ácido acético e B) acetonitrila. O volume de injeção da amostra na coluna foi de 2 µ, e a taxa de fluxo foi ajustada em 0,8 mL/min e o gradiente foi: 13 min em 11% B, 19 min a 30% B, 24 min a 11% B e 45 min a 11% B.

2.4.7 Análise Sensorial

Os testes de análise sensorial foram aceitados nos respectivos comitês de ética em pesquisa com seres humanos para obtenção dos consentimentos para a pesquisa, com número de parecer 2.500.174 e CAAE 74299317.9.0000.0030, assinado o 19 de fevereiro de 2018. Foram feitos dois tipos de análises sensorial: análise descritiva pelo método *Check All that Apply* e análises de aceitação (escala hedônica).

➤ Teste de aceitação: foi realizado com 140 provadores para avaliação da aceitação das polpas congeladas e submetidas a pasteurização. Amostras de 25 mL foram servidas a 20 °C em copos de 50 mL, monadicamente e em ordem aleatorizada. As amostras foram avaliadas por meio da escala hedônica de 9 pontos (1- desgostei extremamente; 9 – gostei extremamente). Os dados foram avaliados por ANOVA com Teste de Tukey se significativo ($p < 0,05$) (Anexo 9).

➤ Teste *Check All That Apply* (CATA): O teste CATA foi utilizado para caracterização descritiva das polpas de *P. setacea*. O método CATA consiste em apresentar amostras a serem avaliadas, acompanhadas de uma lista de descritores pré-definidos, os quais foram escolhidos dependendo da quantidade de vezes que foi repetido o atributo. Descritores considerados adequados para descrever o produto devem ser verificados pelo provador. Os descritores foram determinados em uma sessão anterior, na qual 15 avaliadores receberam 3 pares de amostras, compreendendo *in natura* e uma polpa pasteurizada. Os avaliadores foram convidados a comparar as amostras quanto às suas diferenças e semelhanças (Anexo 9).

Cento e quarenta avaliadores foram recrutados preenchendo um questionário relacionado os dados demográficos (idade, sexo, nível educacional) e características de consumo de néctares de maracujá frescos ou industrializados. Somente consumidores com consumo mínimo de uma vez por mês foram incluídos no estudo. Após assinar o termo de consentimento informado e preencher o formulário de inscrição, os consumidores realizaram

os testes sensoriais. Os participantes receberam aproximadamente 25 mL de cada uma das quatro amostras (IN e pasteurizados nos binômios 82/20, 82/40 e 63° C / 30 min), a uma temperatura de 10 ± 1 °C, servidos em copo plástico marcado com um número de código aleatório de três dígitos. As amostras foram apresentadas aos consumidores em sequência monádica, em blocos completos randomizados. Água e bolachas sem sal foram servidas juntamente com as amostras para limpar o paladar.

O método CATA consiste em apresentar amostras a serem avaliadas, acompanhadas de uma lista de descritores pré-definidos. Os descritores considerados adequados para descrever o produto devem ser verificados pelos provadores (VARELA E ARES, 2012).

2.5 Etapa 3: Determinação da vida de prateleira por meio de testes acelerados

Polpas de *P. setacea* pasteurizadas sob os binômio 82 °C/ 20 s foram armazenadas em câmaras nas temperaturas de 0 °C (controle), 25°C, 35 °C e 45 °C, com base na proposição de Vitali et al. (2004) para realização de Testes Acelerados de Vida-de-Prateleira (TAVP) por 12 dias, sendo as amostras avaliadas a cada 2 dias quanto às variáveis microbiológicas (coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella* spp., mesófilos totais, fungos filamentosos e leveduras), atividade antioxidante pelos métodos ORAC e FRAP, perfil de flavonoides, vitamina C, aceitação global.

2.5.1 Análise sensorial

Na análise sensorial para a etapa de avaliação do teste de prateleira foram recrutados um total de 30 avaliadores. As amostras foram colhidas a cada dois dias e congeladas a -80 °C até o dia das análises. Os avaliadores receberam amostras de 25 mL a 20 °C em copos de 50 mL, simultaneamente e aleatórias. Os avaliadores tinham que observar e degustar as amostras para avaliar de acordo com sua impressão global por meio da escala hedônica de 9 pontos (1- desgostei extremamente; 9 – gostei extremamente).

2.6 Delineamento Experimental

No caso da primeira etapa o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições. Técnicas de análise de variância (ANOVA) e análise de regressão foram utilizadas para estimar parâmetros estatísticos para o cálculo das variáveis dependentes EC_{50} ,

fenólicos totais e AER com fatorial 2 x 5, sendo 2 temperaturas (72 e 82) e 5 tempos (0, 20, 40, 75 e 300 s).

Para a segunda etapa, o delineamento das análises de qualidade foi inteiramente casualizado, totalizando 4 tratamentos (polpa pasteurizada) e pasteurização lenta (63 °C / 30 min) e pasteurização rápida (82 °C / 20 se 82 ° C / 40 s). Foi realizada análise de variância (ANOVA) ($p = 0,05$), seguida do teste de comparação de médias de Tukey, se significativo.

A ANOVA também foi aplicada para dados de aceitação. A frequência de uso de cada descritor pelo método CATA foi determinada pela contagem do número de provadores que utilizaram aquele descritor para caracterizar cada amostra, obtendo assim a tabela de frequência global de atributos por amostra. O teste Q de Cochran seguido de análise por correspondência foi utilizado. O teste Q de Cochran é um teste estatístico não paramétrico utilizado para análise de blocos randomizados com variáveis binárias (Varela e Ares, 2012), que foi utilizado para avaliar se os consumidores percebem diferenças significativas entre as amostras.

Na terceira etapa os dados foram comparados por ANOVA e Tukey ($p < 0,05$), finalmente com os resultados obtidos foi realizado modelos cinéticos, usando-se a regressão linear das curvas nas diferentes temperaturas e obter vida de prateleira numa temperatura de armazenamento de -15 °C. O teste de Shapiro Wilk foi usado para determinar normalidade nos dados, as análises foram feitas em software XLSTAT.

REFERÊNCIAS

ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, p. 1124-1131, 2004.

EMBRAPA CERRADOS. Lançamento da cultivar de maracujazeiro silvestre BRS Pérola do Cerrado, 2013. Disponível em: <http://www.cpac.embrapa.br/lancamentoperola/>. Acesso: 23 setembro 2019.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, RDC nº 12, 2001.

VITALI, A. A.; TEIXEIRA NETO, R. O.; GERMER, S. P. M. Testes Acelerados de vida-de-prateleira de alimentos. In: REAÇÕES DE TRANSFORMAÇÃO E VIDA-DE-PRATELEIRA DE ALIMENTOS PROCESSADOS. Moura, S. C. S. R.; Germer, S. P. M. Campinas: ITAL. 3ª ed. p. 75-92, (Manual Técnico nº 6), 2004.

LARRAURI, J.A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, v. 45, p. 1390-1393, 1997.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, v.28, p.25-30. 1995.

ROUSE, A.H.; ATKINS, C.D. Further results from a study on heat inactivation of pectinesterase in citrus juice. *Food Technology*, v.6, n.8, p.221-223, 1953.

GODOY, R.C.B.; ANTUNES, P.L.; ZONTA, E.P. Estabilização de néctar de goiaba (*Psidium guajava L.*) com gomas xantana, carragena e amido ceroso. *Revista Brasileira de Agrociência*, v.2, n.2, p. 05-11,1998.

CASTAÑÓN, X., LÓPEZ-MALO, A., E ARGAIZ, A. Effect of storage temperature on the microbial and color stability of banana purees prepared with the addition of vanillin or potassium sorbate. *Food Science and Technology International*, 05, 51-58, 1999.

FRANCIS, F. J. The origin of tan-1 a/b. *Journal of Food Science*, 40, 412, 1975.

MASKAN, M. Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying. *JOURNAL OF FOOD ENGINEERING*, 48, 169-175, 2000.

MERKEN, H.; BEECHER, GARY. Measurement of Food Flavonoids by High-Performance Liquid Chromatography: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. p. 577-99, 2000.

DE CARVALHO, M. V. O., DE OLIVEIRA, L. L., & COSTA, A. M. Effect of training system and climate conditions on phytochemicals of *Passiflora setacea*, a wild *Passiflora* from Brazilian savannah. *Food Chemistry*, 266, 350-358, 2018.

PULIDO, R., BRAVO, L., & SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3396-3402, 2000.

FIECHTER, G., SIVÉC, G., & MAYER, H. K. Application of UHPLC for the simultaneous analysis of free amino acids and biogenic amines in ripened acid-curd cheeses. *Journal of Chromatography B*, 927, 191-200, 2013.

WATERS CORPORATION. Waters AccQ-Tag chemistry package (instruction manual). <https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/wat0052881.pdf/> Accessed 10 May 2018.

PARTE 2 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão da pesquisa são apresentados nesta parte do trabalho, dividida em dois capítulos independentes. Os artigos foram elaborados com o fim de atingir os objetivos propostos no capítulo 2 da parte 1.

O primeiro capítulo, intitulado “Pasteurization of passion fruit *Passiflora setacea* pulp to optimize bioactive compounds retention” aborda os resultados dos experimentos 1 e 2 e foi publicado na revista *Food Chemistry*. O artigo tem como objetivo avaliar o efeito dos binômios HTST e LTLT nas características físicas, químicas, antioxidantes e sensoriais da polpa de *P. setacea*.

O segundo capítulo, intitulado “Determinação da vida de prateleira por meio de testes acelerados e seus efeitos na qualidade da polpa de *P. setacea* pasteurizada.”, será submetido para publicação na revista *Food Chemistry*. O objetivo deste artigo é determinar a vida de prateleira por meio de teste acelerado da polpa de *P. setacea* pasteurizada no binômio de 82 °C por 20 s.

CAPÍTULO 1. PASTEURIZAÇÃO DE POLPA DE *PASSIFLORA SETACEA* E EFEITOS NOS COMPOSTOS BIOATIVOS.

1.1 Resultados e Discussão

A obtenção dos binômios de pasteurização foi determinada principalmente na atividade antioxidante (EC₅₀), teor de compostos fenólicos (TCF) e atividade enzimática remanescente (AER) mais altos. A polpa *in natura* de *P. setacea* apresentou um EC₅₀, TCF e AER de 404,74 mg / L, 52,12 mg / 100 g e 100%, respectivamente. A pasteurização do LTLT (63 ° C / 30 min) apresentou 465,00 mg / L, 49,91 mg / 100 e 70% para EC₅₀, TCF, AER, respectivamente Tabela 1.

Tabela 1. Equações de regressão ajustadas e respectivos coeficientes de determinação para EC₅₀, mg / L), teor de compostos fenólicos totais (mg / 100 g) e AER (%) em polpa de *P. setacea* submetida a pasteurização do tipo HTST nas temperaturas de 72 e 82 °C, para 0, 20, 40, 75 e 300 s.

Temperatura (°C)	Equação Ajustada	R ²	EE
Atividade antioxidante (EC ₅₀ , mg/L)			
72	$\hat{y} = \frac{1,041.913}{1 + e^{\frac{-(x-42.565)}{94.573}}}$	0.99	17.259
82	$\hat{y} = \frac{1,006.141}{1 + e^{\frac{-(x-19.815)}{37.177}}}$	0.98	34.823
Fenólicos Totais (mg/100g)			
72	$\hat{y} = 31.323 + 21.863e^{(-0.014x)}$	0.98	1.768
82	$\hat{y} = 29.956 + 22.697e^{(-0.018x)}$	0.98	1.863
Atividade Enzimática Remanescente (AER, %)			
72	$\hat{y} = 47.866 + 53.428e^{(-0.032x)}$	0.98	4.273
82	$\hat{y} = 44.597 + 55.215e^{(-0.041x)}$	0.98	4.779

Atividade antioxidante (EC₅₀), teor de compostos fenólicos (TCF) e atividade enzimática remanescente (AER)
 EE = Erro Padrão Estimado, R² = Coeficiente de correlação, x = temperatura, y = EC₅₀, fenólicos totais, AER.

A Tabela 1 mostra as equações de regressão ajustadas e respectivos coeficientes de determinação para EC₅₀ em mg/L, TCF em mg/100 g e AER (%) em polpa de *P. setacea* submetida a HTST nas temperaturas de 72 e 82 °C, por 20, 40, 75 e 300 s. Cabe ressaltar que menores valores de EC₅₀ representaram maiores valores de capacidade antioxidante da polpa pasteurizada. Independentemente da temperatura, reduções em EC₅₀, TCF e AER foram observadas conforme o tempo de tratamento térmico aumentou.

Uma redução mais acentuada no EC₅₀ e TCF foi observada quando foram adotados os tempos equivalentes a 75 e 300 s, nas temperaturas de 72 e 82 °C. Os valores de EC₅₀, TCF e AER foram estimados a partir das equações de regressão apresentadas na Tabela 2. Quando foram adotados os diferentes binômios resultantes das combinações entre as temperaturas de 72 e 82 °C e os tempos de 75 e 300 s, os valores estimados de EC₅₀ e TCF, foram obtidos entre 609,00 e 1 006,00 mg/L e entre 30,00 e 39,00 mg/100g respectivamente (Tabela 2). Por outro lado, quando adotados os tempos equivalentes a 20 e 40 s associados às diferentes temperaturas, os teores de EC₅₀ e TCF foram determinados entre 459,00 e 637,00 mg/L e entre 41,00 e 49,00 mg/100 g, respectivamente. Assim, a adoção dos tempos de 20 e 40 s permitiu menor EC₅₀ e maior TCF, variáveis que representam a qualidade funcional da polpa. Em relação ao AER, o maior valor estimado foi obtido quando foi adotado o binômio 72 °C / 20 s, sendo equivalente a 76,03%. Por outro lado, quando adotada a temperatura de 82 °C associada aos tempos de 20 e 40 s, a AER foi estimada em 68,91 e 55,31%, respectivamente.

Tabela 2. Valores estimados para atividade antioxidante total, teor de compostos fenólicos totais (mg/100g) e atividade enzimática remanescente (AER %) em polpa de *Passiflora setacea* submetida a HTST nas temperaturas de 72 e 82 °C, para 20, 40, 75 e 300 s.

Temperatura (°C)	Tempo (s)			
	20	40	75	300
Atividade Antioxidante (EC ₅₀ em mg/L)				
72	459,0	513,89	609,42	977,64
82	504,32	636,38	820,24	1.005,61
Teor de Compostos Fenólicos Totais (mg/100g)				
72	47,85	43,81	38,97	31,60
82	45,79	41,00	35,84	30,05

Atividade Enzimática Remanescente (AER, %)				
72	76,03	62,72	52,71	47,87
82	68,91	55,31	47,14	44,60

A estabilidade física de polpas de *Passiflora setacea* submetidas aos binômios 72 °C / 20 s, 72 °C / 40 s, 82 °C / 20 s e 82 °C / 40 s, além do binômio referente à pasteurização lenta (63 °C / 30 min), foi avaliada em relação a sedimentação, conforme demonstrando na Figura 1. As polpas pasteurizadas que adotaram os tempos de 20 e 40 s e temperatura de 82 °C foram as que apresentaram maior estabilidade física, obtendo-se valores médios equivalentes a 48,7 e 41,3 mL da fase clarificada por 100 mL, respectivamente. Entretanto, para os binômios 72 °C / 20 s e 72 °C / 40 s, os valores médios foram equivalentes a 72,0 e 60,0 mL / 100mL, respectivamente. Em relação ao binômio de 63 °C / 30 min (LTLT) foi analisado, 59,3 mL / 100mL foi obtido.

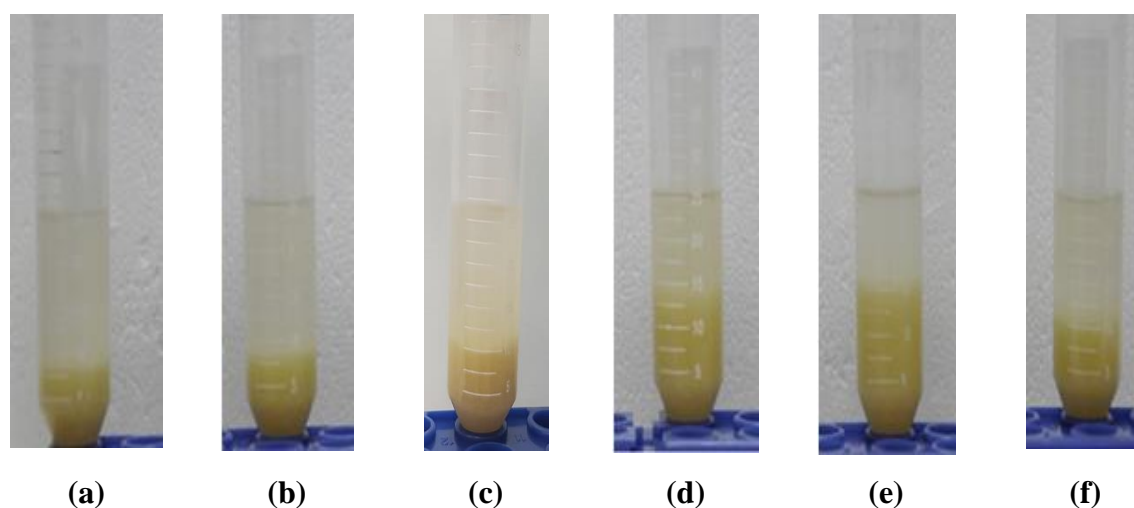


Figura 1. Testes de sedimentação: a) *in natura*; b) 72 °C / 20 s, c) 72 °C / 40 s, d) 82 °C / 20 s, e) 82 °C / 40 s, f) 63 °C / 30 min.

Os tratamentos 82 °C / 20 s, 82 °C / 40 s foram selecionados para continuar com os testes em conjunto com 63 °C / 30 min, por manter um alto teor de EC₅₀, TCF e uma redução no AER. Embora a pasteurização 63 °C / 30 min tenha apresentado uma separação de fases mais intensa, a seleção desse binômio se justifica por se tratar de um processo não oneroso para a produtor, em termos de não aquisição de pasteurizador tubular, equipamento necessário à aplicação dos outros dois binômios.

A análise microbiológica foi realizada para verificar o efeito dos binômios 82 ° C / 20 s, 82 ° C / 40 se 63 ° C / 30 min na redução da carga microbiana da polpa (Tabela 3). A pasteurização da polpa nos três binômios proporcionou uma redução da contagem de bolores, leveduras e mesófilos aeróbios abaixo do limite mínimo de detecção (ANVISA, 2001). Não foram detectados os coliformes, totais, coliformes termotolerantes e *Salmonella* spp. na polpa pasteurizada e *in natura*.

Tabela 3. Contagens de bolores e leveduras, mesófilos aeróbios, coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Salmonella* spp. para polpa *in natura* e pasteurizada de *P. setacea* nos três binômios tempo / temperatura selecionados

Tratamento	Bolores e leveduras (log UFC/g)	Mesófilos aeróbicos (log UFC/g)	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes	
				Termotolerantes (NMP/g)	<i>Salmonella</i> spp.
<i>In natura</i>	2,2	2,8	< 3*	< 3*	Ausente
63 °C/30 min	<1,0*	<1,0*	<3*	<3*	Ausente
82 °C /20 s	<1,0*	<1,0*	<3*	<3*	Ausente
82 °C/40 s	<1,0*	<1,0*	<3*	<3*	Ausente

* Dados Estimados

O efeito dos binômios de pasteurização na cor, vitamina C, análise antioxidante, TCF, flavonoides e aminas bioativas é apresentado na Tabela 4. A saturação da cor diminuiu com todos os tratamentos térmicos, indicando a provável formação de pigmentos que interferem na cor original. O tratamento LTLT também resultou em um aumento significativo no índice de escurecimento, enfatizando o efeito do tempo nas reações de escurecimento não enzimáticas (LING; TANG; KONG; MITCHAM, E WANG, 2015).

Em relação à retenção de vitamina C, houve diferença significativa em todos os tratamentos em relação à polpa *in natura*. O tratamento HTST 82 ° C/20 s apresentou retenção de 93,25 %, seguido pelo tratamento LTLT, com 87,7 %, e o tratamento HTST 82 ° C/40 s, que apresentou retenção de 81,7 %. Apesar das diferenças significativas, a retenção de vitamina C

representou pelo menos 100 % da necessidade média estimada (EAR) de vitamina C que é 90 mg/dia para homens adultos e 75 mg/dia para mulheres adultas (Institute of Medicine, 2000)

Diferenças significativas entre os tratamentos e a polpa *in natura* foram mostradas em relação ao TCF. O tratamento HTST a 82 ° C / 20 se LTLT apresentou os maiores valores de retenção (cerca de 83%), enquanto o tratamento HTST a 82 ° C / 40 s apresentou retenção de 66,6% para TCF. Em relação aos flavonoides, nenhum dos tratamentos térmicos afetou significativamente o teor de vitexina. Por outro lado, nenhuma retenção foi observada para orientina no tratamento com LTLT ou tratamento com HTST 82 ° C / 40 s, enquanto a retenção do tratamento com HTST 82 ° C / 20 s foi de cerca de 39%.

O tratamento HTST 82 ° C / 20 s foi o binômio que apresentou maior retenção da maioria dos flavonoides, pois manteve a quantidade ou maiores de certos flavonoides em comparação com os outros binômios. As quantidades restantes de epicatequina, isoorientina, isovitexina e hesperitina foram 83,7%, 50,5%, 38,0% e 69,4%, respectivamente. Com relação à epicatequina, a pasteurização do LTLT diferiu do tratamento de 82 ° C / 40 s, com retenção de 82% compara com 70% para esse flavonoide (Tabela 4). Pacheco-Palencia, Duncan e Talcott (2009) usaram 80 °C para 1, 5, 10, 30 e 60 min de processamento térmico em polpa de *Euterpe oleracea* e *Euterpe precatoria*, popularmente conhecido como açaí, e analisaram compostos polifenólicos, incluindo antocianinas e polifenóis não antociânicos, como isovitexina, epicatequina, orientina e isoorientina. Os polifenóis não antociânicos permaneceram constantes durante o tratamento térmico a 80 °C por até 60 min, diferindo dos resultados obtidos. Por outro lado, os autores verificaram a degradação das antocianinas nos binômios testados, estando diretamente relacionada ao tempo de exposição. Tempos de exposição mais longos causaram degradação mais intensa das antocianinas. É possível que a degradação de compostos polifenólicos na polpa de *Passiflora setacea*, diferente daquela observada na polpa de açaí, esteja relacionada à composição química. Os principais componentes não aquosos da polpa do açaí são os lipídios, com 48,24 g/100g base seca (TONON, ALEXANDRE, HUBINGER E CUNHA, 2009). Por outro lado, os principais componentes não aquosos da polpa de *Passiflora setacea* são os carboidratos, totalizando 81,95 g/100g em base seca (VIANA, COSTA, E CELESTINO, 2016).

Três métodos diferentes para avaliar a atividade antioxidante *in vitro* foram aplicados com resultados ligeiramente diferentes. De acordo com o teste ORAC, o Teor de atividade

antioxidante (TAA) diminuiu cerca de 11,0% no tratamento HTST 82 °C / 20 s. No entanto, houve reduções no TAA de 77,9 e 69,9% para os binômios 82 °C / 40 s (HTST) e 63 °C / 30 min (LTLT), respectivamente. O teste DPPH mostrou um resultado diferente, visto que o TAA do tratamento com LTLT não diferiu do TAA da polpa *in natura*. O tratamento HTST 82 °C / 20 s apresentou TAA 8,0% menor que a polpa *in natura* e foi significativamente maior que o tratamento 82 °C / 40 s, que diminuiu 24,0% em relação à polpa *in natura*. O FRAP foi semelhante com os resultados do DPPH, com a diferença de que os tratamentos LTLT e 82 °C / 20 s não diferiram.

Resultados semelhantes foram obtidos por Saeeduddin et al. (2015) em suco pasteurizado de pera (*Pyrus bretschneideri*) a 65 °C por 10 min e 95 °C por 2 min, sendo a redução do TAA associada à diminuição da concentração de compostos antioxidantes presentes nas amostras, como compostos fenólicos e ácido ascórbico. Diferentes resultados foram obtidos em suco de romã (*Punica granatum*) e suco de laranja de maracujá (*Passiflora caerulea*). Vegara, Mena, Martí, Saura e Valero (2013) não encontraram redução no TCF no suco de romã (*Punica granatum*) quando os binômios 65 °C / 30 s e 90 °C / 5 s foram adotados. Dos Reis, Facco, Flores e Rios (2018) verificaram um aumento do TAA em suco pasteurizado de maracujá de laranja (88 °C / 15 s). O aumento do TAA em alguns produtos foi associado a uma melhor extração de compostos bioativos após o tratamento térmico, como observado por Mena, Vegara, Martín, García-Viguera, Saura e Valero (2013) ao analisar antocianinas em suco de romã submetido a tratamentos térmicos aos 65, 80 e 95 °C por 30 e 60 s.

Em relação às aminas bioativas, pode-se observar que a maior retenção foi encontrada após o tratamento com LTLT, pois nenhum dos conteúdos diferiu nas polpas *in natura*. Para os teores de agmatina, o tratamento 82 °C / 40 s diferiu da polpa *in natura*, com retenção de 74%.

As aminas presentes nos alimentos são rapidamente metabolizadas no corpo por meio de aminoxidasas (SHALABY, 1996). As aminas absorvidas podem ter propriedades funcionais, como no caso das poliaminas espermina e espermidina que contribuem para a divisão celular, resposta ao estresse e inibição da oxidação lipídica. As aminas biogênicas histamina, tiramina, triptamina, prutescina desempenham um papel importante como neuroativas ou vasoativas. Nos alimentos, a presença de aminas também pode ser utilizada como indicador da qualidade ou das condições higiênicas dos produtos (COSTA, RODRIGUES, FRASAO E CONTE-JUNIOR,

2018). No entanto, podem causar efeitos adversos à saúde como náuseas e enxaqueca, quando consumidos em grandes quantidades (BARDÓCZ, 1995).

Espermidina, putrescina, agmatina foram detectadas nas polpas de *P. setacea*, sendo a putrescina, a principal amina bioativa encontrada (Tabela 4). Estudos de Gadioli (2017) determinaram a presença de cinco aminas na polpa de *P. setacea*: histamina, agmatina, tiramina, putrescina e espermidina, e a polpa tinha um teor de putrescina de 2,1 mg / 100 g. Essa amina pode causar gosto pútrido nos alimentos, por isso é considerada um fator que interfere na aceitabilidade do suco de *passiflora*. Outros autores determinaram aminas em cinco frutas tropicais, entre elas, abacaxi, goiaba, mamão, manga e *P. Alata*, cinco aminas foram detectadas nas polpas das frutas (espermidina, espermina, putrescina, serotonina e agmatina). Os níveis de amina total variaram de 0,77 mg / 100 g manga a 7,53 mg / 100 g *Passiflora alata*, putrescina e espermina foram encontrados na maioria deles. Em *P. alata*, as aminas espermidina, espermina, putrescina, agmatina e serotonina foram encontradas com valores variando de 3,05 mg/100 g e 0,18 mg/100 g para espermidina e serotonina, respectivamente (SANTIAGO-SILVA, LABANCA E GLÓRIA, 2011).

Tabela 4. Cor, teor de vitamina C, teor de compostos fenólicos totais (TCF), atividade antioxidante, flavonoides e amina bioativa para polpa natural e pasteurizada *P. setacea* nos três binômios tempo / temperatura selecionados

Variável	Tratamento				p-value
	<i>In natura</i>	82 °C/20s	82 °C/40s	63 °C/30 min	
Cor					
Croma	32.11 ± 0.10 ^a	26.57 ± 0.87 ^b	23.56 ± 0.84 ^b	24.28 ± 0.90 ^b	0.0001
Tonalidade de cor (h)	77.36 ± 0.13 ^a	78.10 ± 0.68 ^{ab}	77.10 ± 0.21 ^{ab}	77.52 ± 0.48 ^b	0.002
Índice de escurecimento	90.92 ± 6.72 ^a	102.84 ± 10.55 ^{ab}	106.11 ± 11.31 ^{ab}	116.72 ± 10.95 ^b	< 0.0001
Vitamina C (mg/100 g)	37.66 ± 0.83 ^a	35.120 ± 0.40 ^b	30.77 ± 0.77 ^c	33.04 ± 0.79 ^d	< 0.0001
Fenólicos Totais (mg GAE/mL)	0.108 ± 0.01 ^a	0.090 ± 0.01 ^b	0.072 ± 0.01 ^c	0.094 ± 0.01 ^b	< 0.0001
Atividade Antioxidante					
DPPH (µmol TE g ⁻¹)	777.36 ± 0.29 ^a	715.71 ± 0.63 ^b	591.39 ± 0.45 ^c	763.20 ± 0.49 ^a	0.0001
FRAP (µmol TE g ⁻¹)	69.09 ± 0.81 ^a	57.12 ± 0.23 ^b	48.18 ± 0.55 ^c	61.63 ± 0.65 ^{ab}	0.0001
ORAC (µmol TE g ⁻¹)	136.42 ± 0.42 ^a	121.46 ± 0.53 ^b	30.11 ± 0.84 ^c	41.12 ± 0.63 ^c	< 0,0001

Flavonoides (mg/100g)					
Epicatequina	848.11 ± 0.84 ^a	710.5 ± 0.90 ^b	596.46 ± 0.91 ^c	693.13 ± 0.79 ^b	< 0.0001
Orientina	19.83 ± 0.30 ^a	7.669 ± 0.12 ^b	0.00 ± 0.00 ^c	0.00 ± 0.00 ^c	< 0.0001
Isoorientina	211.60 ± 0.29 ^a	106.79 ± 0.78 ^b	54.09 ± 0.73 ^c	76.70 ± 0.37 ^c	< 0.0001
Vitexina	5.45 ± 0.08 ^a	5.40 ± 0.61 ^a	5.16 ± 0.15 ^a	5.38 ± 0.28 ^a	< 0.0001
Isovitexina	57.80 ± 0.49 ^a	22.02 ± 0.31 ^b	12.90 ± 0.22 ^c	14.10 ± 0.57 ^c	< 0.0001
Hesperitina	14.55 ± 0.12 ^a	10.01 ± 0.50 ^c	9.19 ± 0.11 ^c	11.49 ± 0.48 ^c	< 0.0001
Amina Bioativa (mg/kg)					
Espermidina	20.03 ± 2.37 ^{ab}	16.51 ± 1.33 ^b	16.58 ± 0.72 ^b	21.14 ± 1.86 ^a	0.005
Putrescina	77.42 ± 9.15 ^{ab}	63.52 ± 5.49 ^b	74.85 ± 2.20 ^{ab}	85.43 ± 7.01 ^a	0.006
Agmatina	8.37 ± 1.1 ^a	6.91 ± 0.62 ^{ab}	6.21 ± 0.42 ^b	8.20 ± 0.75 ^a	0.007

As médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A Análise de Componentes Principais (PCA) foi realizada para explorar como os diferentes tratamentos afetaram as características da polpa de *Passiflora setacea* (Figura 3). Foi possível discriminar claramente as amostras submetidas ao tratamento térmico da amostra *in natura*, com base nas variáveis analisadas. A primeira dimensão, que explica 57,4% da variação total, mostra que as polpas pasteurizadas a 82 °C / 40 s diferiram mais da polpa *in natura*. Na mesma dimensão, as amostras submetidas a 82 °C / 20 s ou ao LTLT foram semelhantes. Os resultados obtidos para a polpa *in natura* foram os esperados, sendo que se associou positivamente à vitamina C, TAA, TCF (TPC). Tonalidade de cor (Hue) e vitexina estiveram próximos da origem do eixo e, portanto, são variáveis neutras, não associadas a nenhum tratamento. O índice de escurecimento (BI) esteve mais associado às polpas pasteurizadas a 82 °C / 40 s na primeira dimensão e às polpas de pasteurização lenta na segunda dimensão, indicando que, entre os tratamentos, a pasteurização a 82 °C / 20 s levou a menor escurecimento não enzimático. A segunda dimensão foi útil para discriminar tratamentos a 63 °C / 30 min e 82 °C / 40 s. A pasteurização LTLT foi mais associada à retenção de aminos bioativas, enquanto a pasteurização HTST esteve mais próxima das variáveis tonalidade de cor e vitexina e na metade inferior do mapa, para orientina, isorientina, cromina e vitamina C.

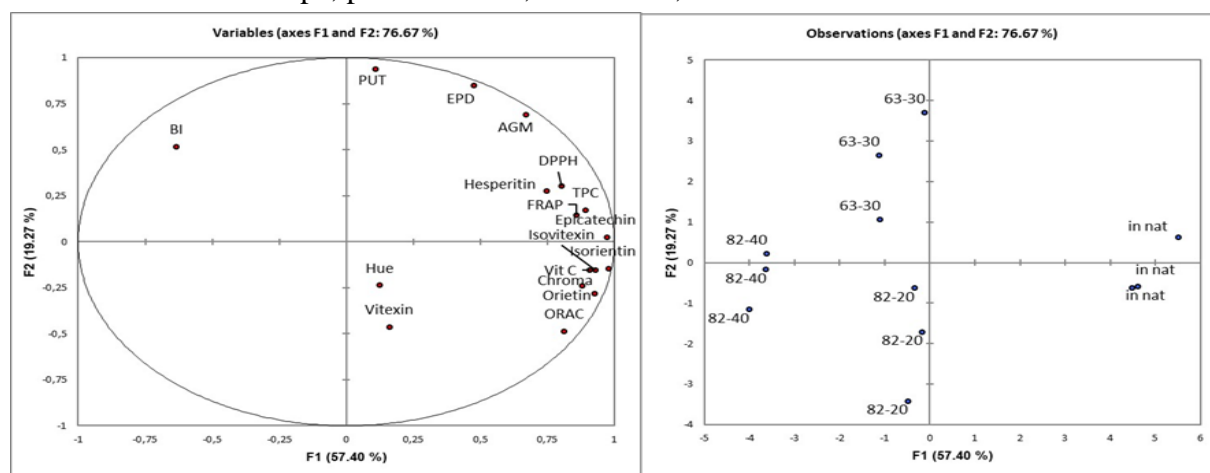


Figura 2. Análise de componentes principais de polpas de *Passiflora setacea* em diferentes condições de processamento.

As variáveis dependentes são tonalidade de cor (Hue), cromina (Chroma), BI - índice de escurecimento, epicatequina, hesperitina, orientina, isorientina, vitexina, isovitexina, VIT C- vitamina C, TCF-conteúdo fenólico total (TPC), PUT - putrescina, AGM- Agmatina, EPD- Espermidina, e atividade antioxidante *in vitro* pelos métodos DPPH, FRAP e ORAC. As

variáveis independentes são polpa *in natura* e polpas pasteurizadas a 63-30 (63 °C / 30 min), 82-20 (82 °C / 20 s) e 82-40 (82 °C / 40 s).

A partir dos resultados da PCA foi possível verificar que a 82 °C, o aumento do tempo de exposição de 20 s para 40 s intensificou negativamente as mudanças na qualidade da polpa de *Passiflora setacea*. Dessa forma, o binômio 82 °C / 20 s possibilitou resultados mais próximos aos obtidos quando a polpa foi submetida ao binômio de 63 °C / 30 min. É importante destacar que todos os binômios testados diferiram da polpa *in natura*, o que está de acordo com os resultados obtidos na análise do teste de Tukey (Tabela 2). Mudanças significativas na qualidade devido ao aumento do tempo de exposição também foram observadas em outros produtos, como suco de romã (Mena et al., 2013) e suco de pera (SAEEDUDDIN et al., 2015).

Nos últimos anos, o CATA vem destacando-se na análise sensorial de alimentos (GRASSO, MONAHAN, HUTCHINGS, E BRUNTON, 2017). Este método fornece informações sobre os atributos percebidos pelos consumidores no que se refere à cor, sabor, aroma, textura e aparência e pode ser utilizado em conjunto com escala hedônica. Foi obtido um total de 30 atributos (Tabela 5). Houve diferença em 7 dos 30 atributos entre as amostras. O Atributo homogêneo foi marcado com maior frequência nas polpas *in natura* e pasteurizadas a 63 °C/30 min do que as polpas submetidas aos binômios de pasteurização rápida. As polpas *in natura* e LTLT foram verificadas com mais frequência quanto ao atributo turvo, mas a polpa LTLT não diferiu da polpa de 82 °C/20 s, que por sua vez não diferiu da polpa de 82 °C/40 s, indicando uma redução gradual da turvação com a intensidade de tratamento térmico. A polpa 82 °C/20 s foi mais marcada que a polpa *in natura* para o atributo amarelo escuro, que pode estar associado ao escurecimento não enzimático em tratamentos térmicos, neste pode-se induzir a reação de caramelização devido à pasteurização. Não foi observada diferença entre os tratamentos de pasteurização para este atributo. Com relação ao sabor, a polpa de 82 °C/40 s foi verificada com mais frequência para descritor pasteurizado / cozido em comparação à polpa *in natura*, sugerindo que 40 s pode ser um limite para o tratamento térmico nesta temperatura considerando o sabor. Para o atributo muito ácido, a polpa *in natura* diferiu da polpa 82 °C/40 s, que foi selecionada com menos frequência. Possivelmente, o surgimento de outros sabores associados ao tratamento térmico nesta polpa pode ter interferido na percepção da acidez. Em relação à textura, o atributo aveludado foi verificado com maior frequência para polpa *in natura* do que para polpa 82 °C/20 s. Para o atributo diluído-fluido-ralo 82 °C/20 s, a polpa foi

selecionada significativamente menos frequentemente do que as polpas *in natura* e LTLT. Este atributo possivelmente está associado à menor homogeneidade e à perda de viscosidade associada à degradação da pectina em polpas *in natura*.

No caso da aceitabilidade da polpa de *Passiflora setacea* submetida à pasteurização, não foi observada variação significativa ($p < 0,05$) em cada uma das variáveis tempo / temperatura e polpas *in natura* em função do tempo de pasteurização e do aumento da temperatura, explicando que os avaliadores não perceberam o processo térmico na polpa pasteurizada. Na literatura não foram encontrados estudos relacionados à avaliação dos atributos e aceitabilidade da polpa de *Passiflora setacea* submetida ao processamento de pasteurização. Janzantti, Santo e Monteiro (2014) estudaram a vida útil de polpa de *Passiflora edulis* fresca e pasteurizada, submetida à pasteurização a 70 e 90 °C. Maior aceitação para todos os atributos foi alcançada para polpas pasteurizadas a 70 °C, de forma diferente ao observado neste estudo.

Tabela 5. Testes Q de Cochran para cada atributo e aceitação em polpa pasteurizada e IN *Passiflora setacea*.

Atributo	Check-all-that-apply				p
	<i>in natura</i>	82 °C/20s	82 °C/40s	63 °C/30min	
Aparência					
Homogêneo*	0.170 ^b	0.319 ^a	0.376 ^a	0.255 ^b	0.000
Brilho ^{ns}	0.191 ^a	0.184 ^a	0.177 ^a	0.227 ^a	0.691
Turvo*	0.489 ^a	0.291 ^{cb}	0.284 ^c	0.433 ^{ba}	0.000
Partículas em suspensão ^{ns}	0.440 ^a	0.475 ^a	0.475 ^a	0.504 ^a	0.649
Esbranquiçado ^{ns}	0.191 ^a	0.149 ^a	0.177 ^a	0.213 ^a	0.408
Aroma					
Floral ^{ns}	0.248 ^a	0.241 ^a	0.191 ^a	0.255 ^a	0.317
Aroma fraco de maracujá ^{ns}	0.355 ^a	0.348 ^a	0.397 ^a	0.404 ^a	0.599
Azedo ^{ns}	0.291 ^a	0.234 ^a	0.291 ^a	0.262 ^a	0.510
Doce ^{ns}	0.135 ^a	0.156 ^a	0.149 ^a	0.184 ^a	0.598
Aroma forte de maracujá ^{ns}	0.078 ^a	0.121 ^a	0.071 ^a	0.092 ^a	0.341
Insosso ^{ns}	0.106 ^a	0.099 ^a	0.092 ^a	0.057 ^a	0.350
Aroma de maracujá ^{ns}	0.227 ^a	0.220 ^a	0.199 ^a	0.213 ^a	0.940

Continua en la próxima página

Continuação da tabela 5

Tabela 5. Testes Q de Cochran para cada atributo e aceitação em polpa pasteurizada e IN *Passiflora setacea*.

Atributo	Cor				p
	<i>in natura</i>	82 °C/20s	82 °C/40s	63 °C/30min	
Amarelo ^{ns}	0.390 ^a	0.270 ^a	0.284 ^a	0.312 ^a	0.091
Amarelo Escuro*	0.028 ^b	0.163 ^a	0.071 ^{ab}	0.092 ^{ab}	0.000
Amarelo pardo ^{ns}	0.184 ^a	0.248 ^a	0.206 ^a	0.241 ^a	0.400
Amarelo fraco ^{ns}	0.362 ^a	0.270 ^a	0.383 ^a	0.305 ^a	0.085
Sabor					
Amargo ^{ns}	0.128 ^a	0.128 ^a	0.106 ^a	0.078 ^a	0.300
Sabor artificial ^{ns}	0.121 ^a	0.128 ^a	0.142 ^a	0.128 ^a	0.930
Fruta madura ^{ns}	0.170 ^a	0.099 ^a	0.170 ^a	0.128 ^a	0.162
Pasteurizado/cozido*	0.035 ^b	0.085 ^{ab}	0.135 ^a	0.113 ^{ab}	0.009
Desagradavel ^{ns}	0.177 ^a	0.099 ^a	0.106 ^a	0.121 ^a	0.103
Adstringente ^{ns}	0.106 ^a	0.106 ^a	0.135 ^a	0.121 ^a	0.794
Agradável ^{ns}	0.298 ^a	0.262 ^a	0.262 ^a	0.298 ^a	0.744
Ácido ^{ns}	0.319 ^a	0.348 ^a	0.376 ^a	0.369 ^a	0.674
Sabor Fruta passada ^{ns}	0.163 ^a	0.156 ^a	0.142 ^a	0.199 ^a	0.557
Sabor de maracujá ^{ns}	0.291 ^a	0.340 ^a	0.312 ^a	0.270 ^a	0.436
Muito ácido*	0.199 ^a	0.142 ^{ab}	0.085 ^b	0.135 ^{ab}	0.030
Textura					
Aveludado*	0.213 ^b	0.348 ^a	0.312 ^{ab}	0.298 ^{ab}	0.035
Granuloso ^{ns}	0.085 ^a	0.085 ^a	0.071 ^a	0.085 ^a	0.957
Viscoso-encorpado ^{ns}	0.199 ^a	0.298 ^a	0.262 ^a	0.312 ^a	0.064
Diluído-fluido-ralo*	0.489 ^a	0.248 ^b	0.355 ^{ab}	0.305 ^a	0.000
Aceitação					
Aparência	6.93±1.62 ^a	7.11±1.48 ^a	6.87±1.72 ^a	6.97±1.69 ^a	0,646
Sabor	5.95±2.22 ^a	6.33±1.99 ^a	6.14±2.16 ^a	6.21±1.92 ^a	0,489
Aroma	6.32±1.92 ^a	6.46±1.83 ^a	6.41±1.81 ^a	6.48±1.74 ^a	0,888
Textura	7.11±1.175 ^a	7.17±1.46 ^a	6.92±1.70 ^a	7.10±1.63 ^a	0,618
Impressão Global	6.23± 1.98 ^a	6.59± 1.74 ^a	6.39± 1.83 ^a	6.52±1.73 ^a	0,369

CATA: (*) indica diferenças significativas ($p < 0,05$), enquanto (ns) indica que não há diferenças significativas de acordo com o teste Q de Cochran para cada atributo. Letras diferentes em uma linha indicam diferença significativa de acordo com comparações de pares múltiplos: teste de McNemar (Bonferroni) ($p < 0,05$).

Aceitação: as médias seguidas pela mesma letra minúscula em uma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). n: 140 consumidor.

1.2 Conclusão

A pasteurização se apresenta como um método de conservação eficaz para manter o abastecimento de polpa de *P. setacea* fora dos períodos de colheita, com pouca perda dos compostos bioativos de interesse e poucas alterações sensoriais. O consumo de *P. setacea in natura* ou em algumas preparações culinárias ao longo do ano pode proporcionar aos consumidores maior eficácia dos efeitos funcionais já estudados. Os tratamentos HTST foram mais eficazes para a estabilidade física do que o LTLT. De fato, as polpas LTLT e *in natura* mostraram similaridade nos atributos sensoriais relacionados a variáveis como turva e diluída-fluido. Em relação aos compostos bioativos, o LTLT foi mais associado à retenção de amins bioativas e o tratamento HTST 82 °C/20 s à retenção de compostos fenólicos. Estudos futuros devem avaliar as mudanças ao longo de armazenamentos refrigerados e congelados. A viabilidade do tratamento com LTLT também deve ser avaliada considerando seu menor custo, em lote, e sua vantagem em processar menores quantidades de matéria-prima, apesar do maior risco de recontaminação em lote e menor estabilidade física em comparação aos métodos HTST.

REFERÊNCIAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, RDC nº 12, 2001.

BARDÓCZ, S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. *Trends in Food Science & Technology*, 6, 341-346, 1995.

COSTA, M.P., RODRIGUES, B.L., FRASAO, B.S., CONTE-JUNIOR, C.A. Biogenic Amines as Food Quality Index and Chemical Risk for Human Consumption, Chapter 2. In *Handbook of Food Bioengineering, Food Quality: Balancing Health and Disease*, Academic Press, A.M. Holban & A.M. Grumezescu (Eds.), *Food Quality: Balancing Health and Disease*, Academic Press, p. 75-108, 2018.

DOS REIS, L. C. R., FACCO, E. M. P., FLÔRES, S. H., & RIOS, A. O. Stability of functional compounds and antioxidant activity of fresh and pasteurized orange passion fruit (*Passiflora caerulea*) during cold storage. *Food Research International*, 106, p. 481-486, 2018.

GADIOLI, I. L. Obtenção, caracterização química, propriedades antioxidantes e antimicrobianas de extratos de polpas, sementes e folhas de *Passifloras* silvestres para formulação de nanoemulsões (Tese de doutorado). Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2017.

GRASSO, S., MONAHAN, F. J., HUTCHINGS, S. C., BRUNTON, N.P. The effect of health claim information disclosure on the sensory characteristics of plant sterol-enriched turkey as assessed using the Check-All-That-Apply (CATA) methodology. *Food Quality and Preference*, 57, p. 69-78, 2017.

Institute of Medicine. Dietary reference intakes: applications in dietary assessment. <https://www.nap.edu/catalog/9956/dietary-reference-intakes-applications-in-dietary-assessment/> Accessed 10 February 2018, 2000.

JANZANTTI, N, C. SANTO, G., & MONTEIRO, M. Shelf life of fresh and pasteurized organic passion fruit (*Passiflora edulis* F. *flavicarpa* Deg.) pulp. *Journal of Food Processing & Preservation*. 38, p. 260-270, 2014.

LING, B., TANG, J., KONG, F., MITCHAM, E. J., & WANG, S. Kinetics of food quality changes during thermal processing: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 8, p. 343–358, 2015.

MENA, P., VEGARA, S., MARTÍ, N., GARCÍA-VIGUERA, C., SAURA, D., VALERO, M. Changes on indigenous microbiota, colour, bioactive compounds and antioxidant activity of pasteurised pomegranate juice. *Food Chemistry*, 141, p. 2122–2129, 2013.

PACHECO-PALENCIA, L. A., DUNCAN, C. E., TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial acai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. *Food Chemistry*, 115, p. 1199–1205, 2009.

SAEEDUDDIN, M., ABID, M., JABBAR, S., WU, T., HASHIM, M.M., AWAD, F.N., HU, B., LEI, S., ZENG, X. Quality assessment of pear juice under ultrasound and commercial pasteurization processing conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 64, p. 452-458, 2015.

SANTIAGO-SILVA, P., LABANCA, R. A., GLORIA, M. B. A. Functional potential of tropical fruits with respect to free bioactive amines. *Food research international*, 44, p. 1264-1268, 2011.

SHALABY, A. R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*, 29, p. 675–690, 1996.

TONON, R. V., ALEXANDRE, D., HUBINGER, M. D., CUNHA, R. L. Steady and dynamic shear rheological properties of açai pulp (*Euterpe oleraceae* Mart.). *Journal of Food Engineering* 467 92, p. 25–431, 2009.

CAPÍTULO 2. ESTIMATIVA DA VIDA DE PRATELEIRA DE POLPA PASTEURIZADA DE *PASSIFLORA SETACEA* POR MEIO DE TESTES ACELERADOS E EFEITOS NA QUALIDADE

Resumo

Para a determinação da vida de prateleira dos alimentos, são utilizados os testes acelerados, que consistem na submissão dos produtos a condições extremas, de tal forma a acelerar o processo de deterioração. O objetivo do trabalho foi determinar a vida de prateleira da *Passiflora setacea* pasteurizada, a partir de variáveis microbiológicas, nutricionais, funcionais e sensoriais. As polpas foram pasteurizadas utilizando-se o binômio de 82 °C/20s e posteriormente armazenadas nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C. A qualidade da polpa foi avaliada no início do armazenamento e a cada dois dias, até 12 dias. Foram avaliados a qualidade microbiológica, os teores de vitamina C e de flavonoides, atividade antioxidante pelos métodos ORAC e FRAP e a avaliação sensorial. No caso do último dia dos testes acelerados, a carga microbiana para polpa *in natura* foi incontável nas temperaturas de 35 e 45 °C, comparado com as polpas pasteurizadas, que apresentaram contagens de < 1.0 UFC/g, 6.70 UFC/g e 6.30 UFC/g, para as temperaturas de 25 °C, 35 °C, e 45 °C, respectivamente. Quando se analisou a vida de prateleira a -15 °C, o menor valor (18,3 dias) foi obtido quando se considerou a vitexina, pertencente ao grupo dos flavonóides. Nesse grupo, a maior vida de prateleira estimada foi de 42,2 dias, quando se considerou a isoorientina. Para a atividade antioxidante pelo método ORAC, estimou-se a vida de prateleira em 70 dias, a -15 °C.

1. Introdução

O Cerrado é um bioma brasileiro com alta diversidade de flora, descrito por suas matas fechadas e árvores com troncos tortos, além da escassez de chuvas, baixas umidades e elevadas temperaturas (FILARDI et al., 2018). Por estas características, o Cerrado é um ambiente adequado para o cultivo de frutas tropicais, como as do gênero *Passiflora*, que tem catalogadas por volta de 130 espécies, embora nem todas nativas (BRAGA; JUNQUEIRA; FALEIRO, 2006).

A *Passiflora setacea* é uma espécie que ocorre no Cerrado, Caatinga, Semi-árido e Norte mineiro (BRAGA; JUNQUEIRA; FALEIRO, 2006). O cultivar BRS Pérola do Cerrado é

proveniente de um melhoramento genético por policruzamento de frutos silvestres diversos (EMBRAPA, 2013). Juntamente com outras espécies de *Passifloras* nativas do Cerrado, a *P. setacea* vem sendo consumida em forma de sucos, doces, geleias, medicamentos e ornamentalmente (BRAGA; JUNQUEIRA; FALEIRO, 2006). Ademais, verifica-se relevante a aceitação da polpa *in natura* em testes de análise sensorial (CARVALHO; OLIVEIRA; MELO, 2018). Esse gênero tem grande importância econômica para o Brasil, com produções anuais estimadas do ano de 2018 de 602 mil toneladas de frutos, resultando em receita de aproximadamente 1 bilhão de reais (IBGE, 2018). De modo geral, a presença de compostos bioativos nesse gênero atrai grande interesse das indústrias de alimentos, farmacêutica e cosmética (BRAGA; JUNQUEIRA; FALEIRO, 2006). Porém, uma das características da *P. setacea* é a sazonalidade, já sua safra se restringe às épocas de outono-inverno, coincidente com a entressafra do maracujá azedo *Passiflora edulis*. Portanto, para assegurar a disponibilidade do fruto ao longo do ano para as diversas aplicações industriais e de consumo, faz-se necessário o processamento. Todavia, o efeito do processamento e do armazenamento a retenção dos compostos bioativos é fundamental no contexto da alegação de propriedades funcionais e de saúde.

O processamento térmico nos alimentos é importante para diminuir a deterioração dos microrganismos, diminuindo as doenças transmitidas por alimentos (DTAS) e aumentando sua validade. A pasteurização é um tipo de processo térmico que utiliza temperaturas até 100 °C que contribuem para a conservação dos alimentos. Atualmente, existem dois métodos para a pasteurização de polpas de frutas quais sejam: HTST (*High Temperature and Short Time*) e LTLT (*Low temperature and Long Time*) (CELESTINO; SANCHEZ, 2018).

Um método para avaliar a eficiência do processo térmico e determinar os efeitos do armazenamento nos alimentos é determinar a vida de prateleira, definida como o tempo no qual o alimento é seguro para o consumo humano, nas condições químicas, físicas, microbiológicas e sensoriais (IFST, 2003). O teste acelerado é um método para determinação da vida de prateleira que utiliza condições críticas, como temperaturas extremas, para que as alterações nos alimentos ocorram de maneira mais rápida, permitindo a extrapolação do alcance de limites inaceitáveis de qualidade por meio de modelos matemáticos (GRIZOTTO et al. 2016; KILCAST e SUBRAMANIAM, 2000). Neste caso, o alimento é armazenado por um tempo pré-estabelecido em temperaturas altas para acelerar sua deterioração e ter uma estimativa do

tempo no que o alimento cumpre com os parâmetros estabelecidos de qualidade microbiológica, nutricional, funcional e sensorial para o consumo humano.

Alguns estudos que se encontram na literatura abordaram a qualidade de derivados frescos e pasteurizados de frutas durante o armazenamento. Dos Reis et al. (2018) avaliaram compostos bioativos e atividade antioxidante em suco fresco e pasteurizado de *Passiflora caerulea* e posteriormente submetido a armazenamento, a 8 °C. Esses autores observaram expressiva retenção dos compostos bioativos durante armazenamento por 4 dias. Estudos em geleia de morango armazenada por 120 dias a 20 °C mostraram que o conteúdo de fenólicos totais diminuíram um 12 % após de 30 dias de armazenados, o teor de antocianinas ao final do armazenamento foi 50% menor. O teor de catequina e epicatequina tiveram um acréscimo nos primeiros 60 dias de armazenamento, no entanto ao final das condições de armazenamento foi observado uma degradação no teor de catequina e epicatequina de 42,8 % e 31,2 %, respectivamente. Enquanto para análise sensorial foi observado uma maior aceitação no dia 60 de armazenamento (PINELI, MORETTI, CHIARELLO E MELO, 2015).

Apesar de existirem na literatura diversos estudos que abordam o armazenamento de derivados de frutas, não há relatos que tratam da qualidade de polpa pasteurizada de *P. setacea* durante o armazenamento. Sanchez et al. (2020) avaliaram o efeito da pasteurização na qualidade de polpa de *P. setacea*. Entretanto, esses autores não avaliaram a qualidade desse derivado de *P. setacea* durante o armazenamento. Destaca-se uma informação fundamental é que seja determinada a vida de prateleira da polpa, considerando-se as principais características de *P. setacea*, inclusive as propriedades funcionais e nutricionais. Portanto, o objetivo do presente trabalho é determinar a vida de prateleira da polpa de *Passiflora setacea* submetida ao processamento de pasteurização rápida e avaliar seus efeitos nas propriedades funcionais, nutricionais e sensoriais.

2. Materiais e métodos

2.1. Obtenção de polpa de *Passiflora setacea*

Os frutos de *Passiflora setacea* BRS Pérola do Cerrado foram colhidos no campo experimental da Embrapa Cerrados, Planaltina, Brasília, DF, com altitude aproximada de 1.050 m. Os frutos foram obtidos na safra 2018 (estação seca). O processo de obtenção da polpa de *P. setacea* foi realizado em sete etapas. Os frutos foram recebidos do campo experimental, lavados, sanitizados e selecionados. As polpas foram extraídas na despulpadora e embaladas

em sacos plásticos de 1000 g cada um e selados com seladora térmica. A polpa de *P. setacea* foi armazenada a -18 °C, até a próxima etapa, de pasteurização do tipo *High Temperature Short Time*, adotando-se o binômio 82 °C/20s, em pasteurizador de placas de banca desenvolvido na EMBRAPA Cerrados (CELESTINO; SANCHEZ, 2018). Posteriormente, as polpas foram embaladas em saquinhos de 50 g e armazenadas a -80 °C. As amostras foram submetidas ao armazenamento em condições aceleradas em estufas nas temperaturas de 25 °C, 35 °C e 45 °C, nos tempos de 0, 2, 4, 6, 8 10 e 12 dias, no intuito de se determinar a vida de prateleira sob congelamento, a -15 °C, por meio de modelagem cinética. Para tanto, a cada 2 dias, foram realizadas análises microbiológicas, de atividade antioxidante e análise sensorial.

2.2. Análise da qualidade da polpa de *Passiflora setacea* durante o armazenamento nos testes acelerados

2.2.1. Análises microbiológicas

Análises microbiológicas foram realizadas na polpa *in natura* e na polpa pasteurizadas no binômio 82 °C/20 s selecionado para garantir um alimento seguro (BRASIL, 2001; BRASIL, 2003). Foram quantificados fungos filamentosos e leveduras, mesófilos aeróbicos, coliformes totais e termotolerantes e *Salmonella* spp.

2.2.2. Perfil de Flavonoides

Os flavonoides foram quantificados de acordo com o método descrito por De Carvalho et al. (2018). Os extratos foram obtidos misturando-se 5 g de polpa e 10 mL de solução de etanol: água (1: 1). Então, 1,0 mL do extrato foi misturado com 0,2 mL de metanol a 50 %, 1,2 mL de HCl (1,2 N) e 0,25 mL de terc-butil-hidroquinona (TBHQ, 0,4 g/L). Posteriormente, as misturas foram sonicadas e filtradas através de um filtro Millex HV de 0,45 mm. Utilizou-se o sistema HPLC Shimadzu®, equipado com uma bomba de alta pressão modelo LC-10AT VP, amostrador automático modelo SIL-10AF e detector de matriz de diodos visíveis UV modelo SPD-M10A (Shimadzu®, Kyoto, Japão) para separação, identificação e quantificação. Os cromatogramas foram obtidos utilizando-se comprimentos de onda de 270, 340 e 380 nm. As fases móveis foram (A) Água: Tetra-hidrofurano: Ácido Trifluoroacético (99,79: 0,2: 0,01) e (B) acetonitrila para epicatequina, vitexina, isovitexina, orientina e isorientina. Foi realizada corrida com 80 % A 20 % B, com vazão de 0,5 mL/min por 25 min.

2.2.3. Vitamina C

A vitamina C foi quantificada por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando-se sistema HPLC Shimadzu® com uma bomba de alta pressão modelo LC-10AT VP, amostrador automático modelo SIL-10AF e um detector de matriz de diodo visível UV SPD-M10A (Shimadzu®, Kyoto, Japão) foi utilizada coluna Lichospher 100 RP18, 250 mm, 4 mm, 5 mm (Merck, Alemanha). A quantificação de DHA foi realizada pela diferença do conteúdo de AA total, para conversão do DHA em AA, foi adicionado 1 mL de solução tampão Trizma 0,5 M (pH 9,0), contendo DTT 40 mM e finalmente foi incubado por 15 min à temperatura ambiente e ao abrigo da luz;

Adicionar 0,5 mL de H₂SO₄ 0,4 M e do conteúdo de AA (antes da conversão do DHA). As amostras foram mantidas protegidas da luz e em temperatura ambiente. A fase móvel foi composta por fosfato de sódio monobásico 1 mM (NaH₂PO₄) e EDTA 1 mM, pH ajustado para 3,0 com ácido fosfórico (H₃PO₄), em eluição isocrática a uma vazão de 1 mL/min. A detecção foi realizada a 245 nm e o ácido ascórbico foi utilizado como padrão, com uma curva variando de 0 a 100 µL/mL (De Carvalho et al., 2018).

2.2.4. Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada pelos métodos FRAP e ORAC. Inicialmente foram obtidos extratos a partir de amostras de 10 g, de acordo com Larrauri et al. (1997). Adicionou-se a cada amostra 40 mL de metanol 50 % v/v, seguido de homogeneização e repouso por 60 min, em temperatura ambiente e protegidas da luz. Finalmente, adicionou-se 40 mL de acetona 70% (acetona: água destilada, 70:30, v/v)

A análise da atividade antioxidante pelo método FRAP foi determinada de acordo com Benzie e Strain (1996) e com modificações propostas por Pulido et al. (2000), adotando-se leitura de absorbância em 595 nm.

A análise da atividade antioxidante pelo método ORAC foi realizada de acordo com Wang et al. (1997), com algumas modificações propostas por Prior et al. (2005). Foram pipetados 150 µL de Fluoresceína 63 mmol/L, seguido por 25 µL de amostra, após, a placa foi incubada no equipamento a 37 °C por 5 min. Logo foi acrescentado 125 µL de solução AAPH 178 mmol/L e incubado por mais 10 min no equipamento. As mensurações foram feitas a cada minuto com λ_{ex} 485nm e λ_{em} 520nm por 50 min, ou até decair toda fluorescência da amostra. Foi realizado triplicata para cada amostra.

2.2.5 Análise sensorial

Foram recrutados 30 avaliadores, que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), preencheram o questionário de dados demográficos (idade, sexo, nível educacional) e padrões de consumo de néctares de maracujá frescos ou industrializados. Somente consumidores com consumo mínimo de uma vez por mês de polpa, suco ou néctar de maracujá foram incluídos no estudo. As análises foram submetidas ao comitê de ética e aprovado com número de parecer 2.500.174 e CAAE 74299317.9.0000.0030, assinado o 19 de fevereiro de 2018

Os testes de aceitação foram realizados no laboratório de Técnica Dietética da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. Os participantes receberam aproximadamente 20 mL de cada uma das treze amostras (IN e pasteurizadas submetidas aos testes acelerados nas temperaturas 25, 35 e 45 anos 0, 2, 4 e 6 dias), a de 10 ± 1 °C. As amostras foram servidas em copos de plástico marcados com códigos aleatórios de três dígitos. O limite de seis (6) dias de armazenamento das polpas foi adotado, tendo em vista os resultados obtidos referentes à análise microbiológica. As amostras foram apresentadas aos consumidores em forma simultânea, de maneira randomizada. Água e bolachas sem sal foram servidas juntamente com as amostras para limpeza do palato. O teste de aceitação da polpa de *Passiflora setacea* foi realizado usando a escala hedônica estruturada de 9 pontos.

2.3. Estimativa da vida de prateleira da polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* a partir de testes acelerados

A vida de prateleira foi estimada a partir da avaliação de polpa pasteurizada de *P. setacea* a partir de testes acelerados nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C, analisando-se a qualidade do produto no início do armazenamento e a cada dois dias, até 12 dias. Foram considerados o perfil de flavonoides, o teor de vitamina C, a atividade antioxidante (FRAP e ORAC) e a análise sensorial.

A partir dos dados obtidos para cada variável analisada, testaram-se os modelos cinéticos de ordem zero, de primeira ordem e de segunda ordem, nas temperaturas de 25, 35 e 35 °C. Na Tabela 1, são apresentados os diferentes modelos cinéticos de reação e suas equações integradas e linearizadas (Wright, 2004). Utilizou-se o coeficiente de determinação (r^2), para definir o modelo cinético adequado a ser considerado ao conjunto de variáveis.

Tabela 1. Modelos de cinéticos de reação e respectivas equações integradas e linearizadas

Ordem	Equações Diferenciais	Equações Integradas e Linearizadas
0	$\frac{dC}{dt} = -k$	$C = C_0 - kt$
1	$\frac{dC}{dt} = -kC$	$\ln C = \ln C_0 - kt$
2	$\frac{dC}{dt} = -kC^2$	$\frac{1}{C} = \frac{1}{C_0} + kt$

Fonte: WRIGHT, 2004.

C = concentração dos diferentes compostos; t = tempo (min); k = constante da taxa de reação (dia⁻¹).

Conhecendo o valor de k (constante da taxa de reação) do modelo cinético de reação que melhor se ajustou ao conjunto de variáveis, determinaram-se a energia de ativação da reação (E_a) e o fator de aceleração de aceleração da temperatura (Q₁₀).

O modelo de Arrhenius foi utilizado para avaliar o efeito da mudança de temperatura na taxa de reação (Equação 1). Dessa forma, foi possível obter a energia de ativação da reação para cada variável analisada.

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{E_a}{R \cdot T} \quad \text{Equação 1}$$

Em que:

k= constante da taxa de reação;

E_a= energia de ativação (cal mol⁻¹);

R = constante universal dos gases – 1,987 cal mol⁻¹ K⁻¹;

T = temperatura absoluta (K).

A partir dos valores de energia de ativação, foi possível definir as variáveis a serem consideradas para a determinação da vida de prateleira da polpa de *P. setacea*. Nessa etapa, consideraram-se três diferentes grupos: i) perfil de flavonoides e vitamina C; ii) atividade antioxidante (FRAP e ORAC); e iii) análise sensorial. Para os grupos i e ii, utilizaram se as variáveis com maior energia de ativação para determinar a vida de prateleira da polpa de *P. setacea*. Para isso, inicialmente foi calculado os valores de Q₁₀, o fator de aceleração da temperatura ou a razão entre as constantes da taxa de reação de temperaturas com intervalo de 10 °C, utilizando-se a Equação 2.

$$Q_{10} = \exp\left(\frac{E_a}{R} \times \frac{10}{T \cdot (T + 10)}\right) \quad \text{Equação 2}$$

Em que:

E_a = energia de ativação (cal mol^{-1});

R = constante universal dos gases – $1,987 \text{ cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$;

T = temperatura absoluta (K).

Depois da obtenção dos valores de Q_{10} , foi possível estimar a vida de prateleira da polpa de *P. setacea* para os três grupos previamente estabelecidos. Para os grupos i e ii, definiu-se como limite, redução para 50% do valor da concentração da variável de referência no início do armazenamento. Para o grupo iii (análise sensorial), adotou-se a nota 5,0 como ponto de corte ou nota mínima aceitável.

2.4 Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi realizado em Delineamento Inteiramente Casualizado, em esquema fatorial 3×7 , sendo três temperaturas (25, 35 e 45 °C) e sete períodos de armazenamento (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 dias). Os resultados obtidos referentes ao perfil de flavonoides, ao teor de vitamina C, à atividade antioxidante e à aceitação sensorial foram submetidos a análises de variância (ANOVA) e quando significativo, foi adotado a posterior o teste de Tukey ($p < 0.05$).

3. Resultados e Discussão

3.1. Qualidade microbiológica de polpas *in natura* e pasteurizada de *P. setacea* submetidas a testes acelerados

Apresentam-se nas Tabelas 2 e 3, os resultados referentes às análises microbiológicas das polpas de *P. setacea in natura* e submetida à pasteurização (82 °C/20 s), respectivamente, e armazenadas em condições aceleradas (25, 35 e 45 °C).

Tabela 2. Análises microbiológicas em polpa de *Passiflora setacea in natura* submetida a condições aceleradas nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C, por 12 dias

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (dias)						
	0	2	4	6	8	10	12
Bolores e leveduras (UFC/g)							
25	2,43	3,60	4,70	4,49	7,01*	7,30*	7,30*
35	2,43	3,70	3,60	5,60	5,60	6,00	Incont.
45	2,43	< 1,0*	< 1,0*	2,85	3,48	2,78	Incont.
Mesófilos aeróbios (UFC/g)							
25	1,90	3,04	3,06	4,49*	6,37*	7,11*	Incont.
35	1,90	3,10	3,50	4,63*	4,91*	4,70*	Incont.
45	1,90	1,70	3,58	3,08	4,60*	4,60*	5,00*
<i>Salmonella</i> spp. (ausência ou presença)							
25	ausência	ausência	ausência	ausência	Ausência	ausência	ausência
35	ausência	ausência	ausência	ausência	Ausência	ausência	ausência
45	ausência	ausência	ausência	ausência	Ausência	ausência	ausência
Coliformes totais (NMP/g)							
25	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*
35	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*
45	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*

* - Dados estimados.

Incont. – Incontável.

Tabela 3. Análises microbiológicas em polpa de *Passiflora setacea* pasteurizada no binômio 82 °C submetida a condições aceleradas nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C, por 12 dias

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (dias)						
	0	2	4	6	8	10	12
Bolores e leveduras (UFC/g)							
25	< 1.0*	< 1.0*	< 1.0*	< 1.0*	< 1.0*	< 1.0*	< 1.0*
35	< 1.0*	< 1.0*	< 1.0*	< 1.0*	2.48	6.30*	6.70*
45	< 1.0*	< 1.0*	< 1.0*	< 1.0*	< 1.0*	< 1.0*	6.30*
Mesófilos aeróbios (UFC/g)							
25	< 1.0*	< 1.0*	1.48	1.70	1.95	5.30*	3.48
35	< 1.0*	< 1.0*	< 1.0*	1.30	2.08	5.70*	5.85*
45	< 1.0*	< 1.0*	< 1.0*	< 1.0*	1.30	1.30*	6.70*
<i>Salmonella</i> spp. (ausência ou presença)							
25	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
35	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
45	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
Coliformes totais (NMP/g)							
25	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*
35	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*
45	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*	< 3,0*

* - Dados estimados.

No que se refere à contagem de bolores e leveduras e de mesófilos aeróbios na polpa *in natura* (Tabela 2), observou-se expressivo aumento nos parâmetros microbiológicos estudados. De acordo com a Instrução Normativa nº 01/2000, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, os limites para bolores e leveduras é de 5.10^3 UFC/g ($\approx 3,70$ log UFC/g) para a polpa *in natura*, congelada ou não, e de 2.10^3 UFC/g ($\approx 3,30$ log UFC/g) polpa que tenha sido submetida a processo de conservação químico ou térmico. Tratando-se da polpa *in natura*, os valores médios da contagem de bolores e leveduras foram superiores ao estabelecido pela legislação brasileira depois de 4 e 6 dias de armazenamento, para as temperaturas de 25 e 35 °C, respectivamente (Tabela 2). No que se refere à polpa pasteurizada (Tabela 3), as contagens de bolores e leveduras permaneceram inferiores ao equivalente a 3,30 log UFC/g durante 12 dias de armazenamento a 25 °C e por 8 e 10 dias de armazenamento, nas temperaturas de 35 e 45 °C, respectivamente.

Com relação à contagem de mesófilos aeróbios na polpa *in natura* (Tabela 2), observou-se aumento expressivo depois de dois dias de armazenamento, nas temperaturas de 25 e 35 °C, sendo incontável a carga desse grupo de micro-organismos aos 12 dias de armazenamento. Na temperatura de 45 °C, houve aumento expressivo na contagem de mesófilos aeróbios somente aos 12 dias de armazenamento. Quanto à polpa pasteurizada (Tabela 3), destacaram-se os aumentos nas contagens de mesófilos aeróbios depois de 10 dias de armazenamento, para 25 e 35 °C, e depois de 12 dias, para 45 °C. Ressalta-se que a contagem de mesófilos aeróbios é importante para determinar a qualidade dos alimentos, tendo em vista que elevada contagem indica que o processamento foi realizado de maneira inadequada ou que o produto foi fabricado com matéria-prima contaminada. De acordo com De Carvalho (2010), contagens de mesófilos aeróbios superiores a 1.10^6 UFC/g é indicativo de que o alimento sofreu alguma alteração sanitária.

Quanto à detecção de *Salmonella* spp. e a contagem de coliformes totais, verificou-se que tanto a polpa *in natura* quanto a pasteurizada permaneceram dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira. Nas amostras de polpa *in natura* ou pasteurizada, armazenadas nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C, por até 12 dias, as contagens estimadas de coliformes totais foram inferiores a 3 NMP/g de polpa. De acordo com RDC N° 331/2019 (ANVISA, 2019). Não foi detectado *Salmonella* spp. nas polpas *in natura* ou pasteurizadas e armazenadas nas diferentes temperaturas durante o armazenamento.

3.2. Perfil de flavonoides, teor de vitamina C e atividade antioxidante de polpas *in natura* e pasteurizada de *P. setacea* submetidas a testes acelerados

Apresentam-se nas Tabelas 4 e 5, os valores médios referentes ao perfil de flavonoides, ao teor de vitamina C e à atividade antioxidante das polpas de *P. setacea in natura* e pasteurizada, respectivamente, armazenadas na temperatura de 25, 35 e 45 °C, por até 12 dias de armazenamento. Foi possível observar redução expressiva em decorrência do tratamento térmico, quando se comparou os resultados obtidos referentes ao perfil de flavonoides, ao teor de vitamina C e à atividade antioxidante das polpas *in natura* e pasteurizada. Esses resultados eram esperados e estão de acordo com Sanchez et al. (2020), que analisaram os efeitos de diferentes binômios de pasteurização na qualidade de polpa de *P. setacea*. Por outro lado, Koch et al. (2013) analisaram concentrações de 14 compostos fenólicos monoméricos, como por exemplo: orientina, isoorientina, vitexina e isovitexina em chá vermelho (*Aspalathus linearis*)

in natura e pasteurizados, e observaram que o tratamento térmico não afetou esses compostos.

Com relação ao perfil de flavonoides nas polpas de *P. setacea in natura* (Tabela 4) e pasteurizada (Tabela 5), verificou-se redução expressiva dos diferentes compostos durante o armazenamento, nas diferentes temperaturas. Quanto ao efeito da temperatura no perfil de flavonoides na polpa *in natura*, verificou-se tendências diferentes. Na polpa *in natura*, para isoorientina, até 8 dias de armazenamento, e epicatequina, por 12 dias de armazenamento, reduções mais expressivas nos teores desses compostos foram observadas na temperatura de 45 °C. A temperatura de 35 °C favoreceu reduções mais acentuadas nos teores de orientina, durante 12 dias de armazenamento, e de isovitexina, a partir de 4 dias de armazenamento. Por outro lado, depois de 8 dias de armazenamento, as maiores reduções nos teores de vitexina foram observadas na temperatura de 25 °C.

No que tange ao efeito da temperatura de armazenamento no perfil de flavonoides na polpa pasteurizada de *P. setacea*, em geral, à medida que se elevou a temperatura, a redução nos teores de isoorientina, orientina e epicatequina se tornou mais intensa. A temperatura de 45 °C favoreceu a retenção de vitexina por até 10 dias, enquanto redução mais acentuada no teor de isovitexina foi observada na temperatura de 35 °C, durante 12 dias de armazenamento. Este comportamento pode ser explicado pela natureza dos flavonoides, os quais apresentam baixo peso molecular e são compostos basicamente por dois anéis fenil ligados por um anel pirano (Martinez-flores et al, 2002). Dependendo da substituição no anel de carbono vai ter um isômero da estrutura principal, fazendo que um flavonoide seja mais sensível ou resistente ao efeito da temperatura (Martinez-flores et al, 2002). É importante destacar que não foi detectada a presença de orientina na polpa pasteurizada de *P. setacea* depois de 12 dias de armazenamento, nas temperaturas de 35 e 45 °C. Então, quando se analisou o perfil de flavonoides na polpa de *P. setacea*, a orientina se destacou como o composto mais sensível durante o armazenamento em temperaturas iguais ou superiores a 35 °C

Tabela 4. Valores médios referentes ao perfil de flavonoides, teor de vitamina C e atividade antioxidante na polpa in natura de *Passiflora setacea* submetida a testes acelerados nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C, por 12 dias

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (dias)						
	0	2	4	6	8	10	12
Perfil de flavonoides							
<i>Isoorientina (mg/100g)</i>							
25	152,07 ^{Aa} ± 3,60	148,25 ^{Ab} ± 0,57	144,66 ^{Ac} ± 2,21	138,36 ^{Ad} ± 1,13	131,04 ^{Ae} ± 2,25	74,71 ^{Bf} ± 1,97	69,90 ± 0,84 ^{Cg}
35	152,07 ^{Aa} ± 3,60	139,01 ^{Bb} ± 0,48	138,49 ^{Bb} ± 0,47	125,61 ^{Bc} ± 3,02	117,73 ^{Bd} ± 4,77	73,32 ^{Be} ± 0,39	71,20 ± 0,39 ^{Bf}
45	152,07 ^{Aa} ± 3,60	123,83 ^{Cb} ± 0,90	120,10 ^{Cbc} ± 4,7	118,79 ^{Cc} ± 3,66	114,24 ^{Bd} ± 1,13	87,764 ^{Cg} ± 0,60	82,16 ± 3,60 ^{Af}
<i>Orientina (mg/100g)</i>							
25	13,80 ± 0,94 ^{Aa}	13,65 ± 2,11 ^{Aab}	12,32 ± 0,28 ^{Bb}	11,50 ± 0,49 ^{Ac}	8,66 ± 0,41 ^{Ad}	7,31 ± 0,02 ^{Ae}	6,74 ± 0,12 ^{Af}
35	13,80 ± 0,94 ^{Aa}	13,60 ± 0,23 ^{Aa}	9,67 ± 0,21 ^{Db}	8,41 ± 1,08 ^{Cc}	6,88 ± 0,09 ^{Cd}	5,74 ± 0,34 ^{Ce}	5,18 ± 0,44 ^{Be}
45	13,80 ± 0,94 ^{Aa}	13,53 ± 2,23 ^{Aa}	13,15 ± ^{Aa}	8,82 ± 0,06 ^{Bb}	7,61 ± 1,68 ^{Bc}	6,65 ± 0,15 ^{Bd}	5,90 ± 0,48 ^{Be}
<i>Vitexina (mg/100g)</i>							
25	8,90 ± 0,16 ^{Aa}	7,47 ± 0,03 ^{Ab}	6,63 ± 0,34 ^{Ac}	5,25 ± 0,03 ^{Abd}	3,92 ± 0,05 ^{Ce}	3,34 ± 0,01 ^{Af}	2,76 ± 0,01 ^{Bg}
35	8,90 ± 0,16 ^{Aa}	7,25 ± 0,48 ^{Ab}	5,25 ± 0,01 ^{Bc}	4,99 ± 0,28 ^{Bd}	4,21 ± 0,07 ^{Be}	3,36 ± 0,32 ^{Af}	3,23 ± 0,01 ^{Af}
45	8,90 ± 0,16 ^{Aa}	6,47 ± 0,02 ^{Bb}	6,26 ± 0,01 ^{Ab}	5,56 ± 0,01 ^{Ac}	5,45 ± 0,72 ^{Ac}	3,72 ± 0,33 ^{Ad}	3,71 ± 0,35 ^{Ad}
<i>Isovitexina (mg/100g)</i>							
	0	2	4	6	8	10	12
25	33,59 ± 3,19 ^{Aa}	28,10 ± 0,57 ^{Bb}	28,08 ± 3,96 ^{Bb}	26,01 ± 0,23 ^{Bc}	13,90 ± 0,41 ^{Bd}	10,23 ± 0,46 ^{Be}	6,75 ± 0,47 ^{Af}
35	33,58 ± 3,19 ^{Aa}	30,84 ± 1,04 ^{Ab}	12,45 ± 0,14 ^{Cc}	12,23 ± 0,80 ^{Cc}	11,91 ± 0,76 ^{Cd}	8,24 ± 0,16 ^{Ce}	5,10 ± 0,26 ^{Cf}
45	33,59 ± 3,19 ^{Aa}	30,48 ± 1,67 ^{Ab}	29,00 ± 3,50 ^{Ac}	27,54 ± 1,24 ^{Ad}	21,05 ± 1,48 ^{Ae}	11,84 ± 0,12 ^{Af}	5,89 ± 0,55 ^{Bg}

<i>Epicatequina (mg/100g)</i>							
25	116,30±0,41 ^{Aa}	111,13±0,18 ^{Ab}	111,02±0,10 ^{Ab}	100,45±0,37 ^{Bc}	95,84±4,67 ^{Ad}	76,77±3,54 ^{Be}	70,68±5,73 ^{Bf}
35	116,30±0,41 ^{Aa}	102,44±0,32 ^{Bb}	102,35±0,25 ^{Bbc}	101,30±0,08 ^{Ac}	92,61±0,09 ^{Bd}	89,78±0,34 ^{Ae}	87,06±0,36 ^{Af}
45	116,30±0,41 ^{Aa}	98,37±0,05 ^{Cb}	95,82±0,085 ^{Cc}	95,66±5,32 ^{Cc}	92,37±1,18 ^{Bd}	74,46±0,50 ^{Ce}	67,36±0,35 ^{Cf}
<i>Vitamina C (mg/100g)</i>							
25	24,04±0,07 ^{Aa}	23,50±0,03 ^{Ab}	20,71±0,07 ^{Ac}	20,18±0,26 ^{Ad}	19,58±0,01 ^{Ade}	19,27±0,03 ^{Ae}	18,85±0,05 ^{Af}
35	24,04±0,07 ^{Aa}	20,96±0,06 ^{Cb}	20,63±0,03 ^{Ab}	19,74±0,02 ^{Bc}	19,35±0,49 ^{Ac}	19,11±0,09 ^{Ac}	18,56±0,30 ^{Ad}
45	24,04±0,07 ^{Aa}	20,86±0,07 ^{Cb}	20,35±0,02 ^{Ab}	19,65±0,013 ^{Bc}	19,33±0,06 ^{Ac}	18,99±0,02 ^{Bc}	18,14±0,01 ^{Ad}
<i>FRAP (µmol equi. Trolox/100g)</i>							
25	255,59±7,26 ^{Aa}	227,50±18,75 ^{Ab}	171,52±3,12 ^{Ac}	158,88±0,96 ^{Ad}	150,97±0,86 ^{Ae}	138,05±1,87 ^{Af}	125,83±1,50 ^{Ag}
35	255,69±7,26 ^{Aa}	208,75±1,10 ^{Bb}	166,11±1,27 ^{Bc}	156,52±0,63 ^{Bd}	146,38±1,04 ^{Be}	133,88±0,96 ^{Bf}	121,66±1,66 ^{Bg}
45	255,69±7,26 ^{Aa}	180,69±8,84 ^{Cb}	163,05±1,04 ^{Cc}	153,88±1,46 ^{Cd}	142,63±1,46 ^{Ce}	130,13±2,09 ^{Cf}	115,13±2,54 ^{Cg}
<i>ORAC (µmol equi. Trolox/100g)</i>							
25	45561,76±605,72 ^A a	45537,90±582,02 ^{Aa}	45191,84±202,69 ^{Ab}	44998,28±246,1 ^{Ac}	44402,76±201,93 ^{Bd}	44200,55±63,97 ^{Bd}	43765,73±566,4 ^A d
35	45561,76±605,72 ^A a	45134,71±331,55 ^{Ca} b	45032,13±335,09 ^{Ab}	44788,91±124,8 ^{AB} c	44686,52±343,2 ^{AcD}	44425,17±199,36 ^A d	43694,4±422,7 ^{Ae}
45	45561,76±605,72 ^A a	45323,05±635,46 ^{Ba}	44730,35±333,28 ^{Bb}	44650,58±226,43 ^B b	44485,40±238,34 ^{AB} c	43697,35±320,40 ^C d	43179,9±610,3 ^{Bd}

**Letras maiúsculas diferentes na vertical indicam diferença estatística (p<0,001) no teor de vitexina entre os tratamentos *in natura* e pasteurizado, nas temperaturas 25°C, 35°C e 45°C. Letras minúsculas diferentes na horizontal indicam diferença estatística (p<0,001) no teor de vitexina do mesmo tratamento em relação aos dias de vida-de-prateleira. Valor p de acordo com Teste de Tukey (p<0,001) utilizando o software XLSTAT (ADDINSOFT, New York, NY).

Tabela 5. Valores médios referentes ao perfil de flavonoides, teor de vitamina C e atividade antioxidante na polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* submetida a testes acelerados nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C, por 12 dias

Temperatura (°C)	Tempo de armazenamento (dias)						
	0	2	4	6	8	10	12
Perfil de flavonoides							
<i>Isoorientina (mg/100g)</i>							
25	61,78±0,55 ^{Aa}	53,66±0,42 ^{Ab}	52,07±2,61 ^{Ab}	47,13±1,64 ^{Bc}	36,79±0,45 ^{Ad}	33,26±0,60 ^{Ae}	25,56±1,56 ^{Af}
35	61,78±0,55 ^{Aa}	52,35±2,66 ^{Ab}	51,20±2,36 ^{Ab}	51,17±0,72 ^{Ab}	29,31±0,93 ^{Bc}	28,49±0,36 ^{Bcd}	27,09±0,39 ^{Ad}
45	61,78±0,55 ^{Aa}	45,56±1,87 ^{Bb}	43,27±0,33 ^{Bc}	30,95±0,61 ^{Bd}	19,70±0,48 ^{Ce}	17,47±0,88 ^{Cf}	14,13±1,29 ^{Bg}
<i>Orientina (mg/100g)</i>							
25	12,79±0,12 ^{Ba}	12,28±0,31 ^{Aa}	11,58±1,29 ^{Ab}	7,27±0,93 ^{Bc}	7,22±0,83 ^{Ac}	0,33±0,03 ^{Ad}	0,25±0,25 ^{Ae}
35	12,79±0,12 ^{Ba}	11,20±0,05 ^{Bb}	9,02±1,33 ^{Bc}	7,80±0,66 ^{Bd}	0,52±0 ^{Ce}	0,05±0 ^{Bf}	0,0±0 ^{Bg}
45	12,79±0,12 ^{Ba}	9,75±1,28 ^{Cb}	9,62±0,47 ^{Bb}	8,41±0,98 ^{Ac}	1,54±0 ^{Bd}	0,33±0,07 ^{Ae}	0,0±0 ^{Bf}
<i>Vitexina (mg/100g)</i>							
25	5,74±0,20 ^{Aa}	3,60±0,09 ^{Bb}	3,10±0,26 ^{Bc}	2,85±0,27 ^{Bd}	2,68±0,10 ^{Ad}	1,87±0,04 ^{Ce}	1,64±0,13 ^{Ae}
35	5,74±0,20 ^{Aa}	3,62±0,12 ^{Bb}	3,57±0,10 ^{Bb}	2,62±0,05 ^{Bc}	2,50±0,05 ^{Ac}	2,13±0,15 ^{Bd}	1,33±0,01 ^{ABe}
45	5,74±0,20 ^{Aa}	5,54±0,03 ^{Aab}	5,34±0,03 ^{Ab}	4,05±0,37 ^{Ac}	2,84±0,14 ^{Ad}	2,71±0,12 ^{Ad}	1,27±0,01 ^{Be}
<i>Isovitexina (mg/100g)</i>							
	0	2	4	6	8	10	12
25	14,36±0,11 ^{Aa}	12,93±0,16 ^{Bb}	11,96±0,31 ^{Ac}	11,94±1,08 ^{Ac}	11,10±0,64 ^{Ac}	4,42±0,44 ^{Bd}	4,38±0,70 ^{Ae}
35	14,36±0,11 ^{Ba}	14,33±0,46 ^{Ab}	9,51±0,70 ^{Bc}	8,53±0,47 ^{Cd}	6,53±0,42 ^{Ce}	3,83±0,14 ^{Cf}	3,63±0,06 ^{Bf}
45	14,36±0,11 ^{Aa}	12,92±0,44 ^{Bb}	11,62±0,42 ^{Ac}	10,86±0,94 ^{Bd}	10,86±0,57 ^{Bd}	9,09±0,36 ^{Ae}	4,26±0,19 ^{Af}

Epicatequina (mg/100g)							
25	98,44±3,75 ^{Aa}	92,25±0,97 ^{Ab}	86,61±4,49 ^{Ac}	83,83±3,43 ^{Ad}	82,46±4,91 ^{Ae}	71,18±0,31 ^{Cf}	67,63±0,35 ^{Ag}
35	98,44±3,75 ^{Aa}	74,78±0,29 ^{Bb}	72,00±1,26 ^{Bc}	70,80±0,51 ^{Bd}	70,40±0,83 ^{Bd}	67,00±0,79 ^{Be}	64,74±1,97 ^{Bf}
45	98,44±3,75 ^{Aa}	73,31±1,03 ^{Cb}	68,70±2,71 ^{Cc}	66,97±0,25 ^{Cd}	64,32±0,25 ^{Ce}	60,12±0,26 ^{Cf}	56,07±2,17 ^{Cg}
Vitamina C (mg/100g)							
25	21,97±0,37 ^{Aa}	21,13±0,09 ^{Ba}	20,47±0,07 ^{Ab}	19,80±0,07 ^{Bc}	18,69±0,11 ^{Bd}	18,45±0,05 ^{Bd}	18,25±0,02 ^{Ad}
35	21,97±0,37 ^{Aa}	20,71±0,04 ^{Cb}	20,49±0,05 ^{Ab}	19,34±0,22 ^{Bc}	18,60±0,05 ^{Bd}	18,48±0,25 ^{Bd}	18,15±0,02 ^{Ad}
45	21,97±0,37 ^{Aa}	20,61±0,08 ^{Cb}	20,29±0,04 ^{Ab}	19,02±0,17 ^{Bc}	18,50±0,03 ^{Bd}	18,32±0,03 ^{Bd}	17,86±0,25 ^{Be}
FRAP (µmol equi. Trolox/100g)							
25	202,63±16,33 ^{Aa}	180,97±2,51 ^{Ab}	155,97±3,49 ^{Ac}	140,97±1,87 ^{Ad}	129,58±1,10 ^{Ae}	119,86±1,87 ^{Af}	107,77±1,57 ^{Ag}
35	202,63±16,33 ^{Aa}	171,66±3,75 ^{Bb}	149,72±2,51 ^{Bc}	136,94±0,63 ^{Bd}	127,08±0,41 ^{Be}	116,94±0,48 ^{Bf}	105,00±0,41 ^{Bg}
45	202,63±16,33 ^{Aa}	164,44±1,20 ^{Cb}	145,69±1,73 ^{Cc}	132,50±1,81 ^{Cd}	123,75±0,83 ^{Ce}	112,22±2,83 ^{Cf}	99,44±3,75 ^{Cg}
ORAC (µmol equi. Trolox/100g)							
25	1165,12±47,89 ^{Aa}	1075,08±64,68 ^A b	1057,65±43,90 ^{Ab}	1053,34±31,12 ^{Ab}	986,17±19,61 ^{Ac}	812,13±16,39 ^{Ad}	626,88±39,89 ^{Ae}
35	1165,12±47,89 ^{Aa}	837,52±15,68 ^{Cb}	806,70±66,60 ^{Bbc}	797,02±18,86 ^{Bc}	780,17±35,23 ^{Bc}	599,80±7,16 ^{Bd}	504,10±41,88 ^{Be}
45	1165,12±47,89 ^{Aa}	961,22±74,35 ^{Bb}	775,25±46,91 ^{Cc}	733,34±47,39 ^{Cc}	685,19±64,68 ^{Cd}	609,94±36,96 ^{Be}	432,18±10,43 ^{Cf}

**Letras maiúsculas diferentes na vertical indicam diferença estatística ($p < 0,001$) no teor de vitexina entre os tratamentos *in natura* e pasteurizado, nas temperaturas 25°C, 35°C e 45°C. Letras minúsculas diferentes na horizontal indicam diferença estatística ($p < 0,001$) no teor de vitexina do mesmo tratamento em relação aos dias de vida-de-prateleira. Valor p de acordo com Teste de Tukey ($p < 0,001$) utilizando o software XLSTAT (ADDINSOFT, New York, NY).

Quanto ao comportamento do teor de vitamina C nas polpas de *P. setacea in natura* (Tabela 4) e pasteurizada (Tabela 5), verificou-se redução à medida que se elevou o tempo de armazenamento, nas diferentes temperaturas. Observou-se ainda ligeira tendência de incremento na redução dos teores de vitamina C, com a elevação da temperatura. As reduções nos teores de vitamina C na polpa *in natura*, depois de 12 dias de armazenamento, variaram entre 21,58 % (25 °C) e 24,54 % (45 °C). Na polpa pasteurizada, as reduções nos teores de vitamina C depois de 12 dias de armazenamento permaneceram entre 16,93 % (25 °C) e 18,87 % (45 °C). Ressalta-se que as reduções nos teores de vitamina C foram inferiores às observadas no perfil de flavonoides.

Resultados semelhantes foram relatados por Hoffmann et al. (2017), que avaliaram a estabilidade dos compostos bioativos na polpa e néctar de *Butia odorata* submetidas a pasteurização (100 °C/15 min) e posteriormente armazenadas a -18 °C durante 3 meses. Esses autores observaram reduções nos teores de compostos fenólicos e de flavonoides, porém não houve redução expressiva no teor de vitamina C durante o armazenamento. Tembo et al. (2017) avaliaram o teor de vitamina C em polpa de *Adansonia digitata* pasteurizada e armazenada a 30 °C, e observaram redução de 93,3 % depois de 60 dias de armazenamento.

Com relação à atividade antioxidante pelos métodos FRAP e ORAC nas polpas de *P. setacea in natura* (Tabela 4) e pasteurizada (Tabela 5), em geral, observou-se redução durante o armazenamento, sendo essa tendência mais intensa na temperatura de 45 °C. Em se tratando de atividade antioxidante por ORAC a polpa *in natura*, apesar de ter ocorrido redução significativa ($p < 0,05$) durante o armazenamento, o maior percentual de redução foi de 5,23 %, obtido quando se adotou a temperatura de 45 °C, por 12 dias. Por outro, verificou-se redução mais acentuada na polpa pasteurizada, com percentuais de redução depois de 12 dias de armazenamento variando entre 46,20 % (25 °C) e 62,91 % (45 °C). Em contrapartida, para a atividade antioxidante por FRAP, não foi verificada diferença tão expressiva na tendência de redução quando se comparou os resultados obtidos referentes às polpas *in natura* e pasteurizada e armazenadas por 12 dias, nas diferentes temperaturas. Para a polpa *in natura*, os percentuais de redução na atividade antioxidante por FRAP variaram entre 50,77 % (25 °C) e 54,97 % (45 °C), enquanto permaneceram entre 46,81 % (25 °C) e 50,93 % (45 °C), na polpa pasteurizada.

Outros autores avaliaram a atividade antioxidante de derivados de frutas pasteurizados durante o armazenamento. Resultados semelhantes aos do presente estudo foram observados por Touati et al. (2016), que observaram redução expressiva da atividade antioxidante por

ORAC em néctares de pera e uva, processados termicamente, depois de três dias de armazenamento, a 25 e 37 °C. Tembo et al. (2017) verificaram redução na atividade por FRAP em polpas pasteurizadas (72 °C/15 s) de baoba (*Adansonia digitata*) e armazenadas por 42 dias, a 15 e 30 °C. Por outro lado, Londoño et al. (2019) analisaram a atividade antioxidante por ORAC em suco de manga pasteurizado (85 °C/10 min) e armazenado a 4 °C, por até 64 dias. Esses autores não observaram redução significativa da atividade antioxidante.

Apresentam-se na Tabela 6, os dados de aceitação global de polpa de *P. setacea* pasteurizada, armazenada nas temperaturas de 25,35 e 45 °C, por 6 dias. Ressalta-se que o tempo máximo de armazenamento considerado para análise sensorial foi definido levando-se em consideração os resultados obtidos na análise microbiológica (Tabela 1), de tal forma que fosse fornecido aos provadores produto com qualidade adequada. Além disso, observou-se visualmente alteração na coloração do produto para tempos de armazenamento superior a 6 dias, sobretudo na temperatura de 45 °C. Dessa forma, consideraram-se as amostras referentes aos tempos de armazenamento superiores a 6 dias como inadequadas para utilização na análise sensorial. Nesse cenário, apesar de ter sido observada ligeira tendência de redução nas notas atribuídas pelos provadores para aceitação global, à medida que se elevou a temperatura e o tempo de armazenamento, os resultados da análise de variância não indicaram diferença significativa. Por outro lado, Buvé et al. (2018) observaram diferença significativa quando submeteram a análise sensorial sucos de morangos pasteurizados (95 °C/2 min) e armazenados a 20 °C, por até 32 semanas. Para a análise sensorial, esses autores consideraram o aroma e obtiveram variação significativa quando comparadas às amostras não armazenadas com aquelas armazenadas por uma semana ou período superior.

Tabela 6. Aceitação global da polpa de *Passiflora setacea* pasteurizada submetida a testes acelerados nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C, por 12 dias

Tempo de armazenamento (dias)	Temperatura (°C)		
	25	35	45
0	6,4 ± 1,75	6,30 ± 1,84	6,40 ± 1,50
2	6,47 ± 1,99	5,05 ± 2,24	6,23 ± 2,09
4	6,03 ± 1,86	5,87 ± 2,35	6,00 ± 1,98
6	6,10 ± 2	5,60 ± 2,34	5,43 ± 1,85

3.3. Estimativa da vida de prateleira da polpa pasteurizada de *P. setacea* a partir de testes acelerados

Apresentam-se nas Tabelas 7 - 15 as equações ajustadas, e os respectivos coeficientes de determinação, dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem referentes às diferentes variáveis qualitativas da polpa pasteurizada de *P. setacea* armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo de armazenamento. Em geral, o modelo cinético de primeira ordem apresentou ajuste adequado, apresentando equações com os maiores ou os segundos maiores coeficientes de determinação. De acordo com ZHI et al. (2017), geralmente os modelos cinéticos de ordem zero ou de primeira ordem tem sido utilizado para avaliar alterações qualitativas em alimentos durante o processamento e armazenamento, sendo o modelo cinético de primeira ordem o mais amplamente utilizado. Então, optou-se por utilizar os valores de k (constante da taxa de reação) do modelo cinético de primeira ordem para a obtenção da energia da ativação (E_a) das variáveis qualitativas da polpa pasteurizada de *P. setacea*.

Tabela 7. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para o teor de isoorientina de polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x)

Temperatura (°C)	Ordem	Equações ajustadas	R ²
25	0	$\hat{y} = -2,9418x + 61,972$	0,98
	1	$\hat{y} = -0,0706x + 4,1752$	0,95
	2	$\hat{y} = 0,0018x + 0,0138$	0,90
35	0	$\hat{y} = -3,1014x + 61,664$	0,88
	1	$\hat{y} = -0,0759x + 4,1664$	0,87
	2	$\hat{y} = 0,0019x + 0,0141$	0,85
45	0	$\hat{y} = -3,9768x + 57,126$	0,94
	1	$\hat{y} = -0,1273x + 4,1399$	0,97
	2	$\hat{y} = 0,0047x + 0,0108$	0,95

n = 3 repetições, foram tomados em conta 3 pontos para a plotagem da gráfica.

Tabela 8. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para o teor de orientina de polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x)

Temperatura (°C)	Ordem	Equações ajustadas	R ²
25	0	$\hat{y} = -1,1764x + 14,447$	0,90
	1	$\hat{y} = -0,3538x + 3,3042$	0,81
	2	$\hat{y} = 0,3163x - 0,8192$	0,65
35	0	$\hat{y} = -1,3851x + 13,8224$	0,91
	1	$\hat{y} = -0,5440x + 3,4812$	0,86
	2	$\hat{y} = 1,5018x - 3,7875$	0,49
45	0	$\hat{y} = -1,2591x + 13,3690$	0,89
	1	$\hat{y} = -0,3565x + 3,0397$	0,89
	2	$\hat{y} = 0,2345x + 0,492$	0,56

n = 3 repetições, foram tomados em conta 3 pontos para a plotagem da gráfica.

Tabela 9. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para o teor de vitexina de polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x)

Temperatura (°C)	Ordem	Equações ajustadas	R ²
25	0	$\hat{y} = -0,2889x + 4,8021$	0,84
	1	$\hat{y} = -0,0931x + 1,6034$	0,94
	2	$\hat{y} = 0,0334x + 0,1771$	0,93
35	0	$\hat{y} = -0,3086x + 4,9243$	0,88
	1	$\hat{y} = -0,1036x + 1,6543$	0,93
	2	$\hat{y} = 0,0400x + 0,1506$	0,86
45	0	$\hat{y} = -0,3852x + 6,2382$	0,84
	1	$\hat{y} = -0,1176x + 1,9648$	0,86
	2	$\hat{y} = 0,0221x + 0,0968$	0,88

n=3 repetições, foram tomados em conta 3 pontos para a plotagem da gráfica.

Tabela 10. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para o teor de isovitexina de polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x)

Temperatura (°C)	Ordem	Equações ajustadas	R ²
25	0	$\hat{y} = -0,8539x + 15,279$	0,82
	1	$\hat{y} = -0,1033x + 2,8419$	0,86
	2	$\hat{y} = 0,0139x + 0,0391$	0,70
35	0	$\hat{y} = -1,003x + 14,693$	0,95
	1	$\hat{y} = -0,1275x + 2,7981$	0,95
	2	$\hat{y} = 0,0187x + 0,0379$	0,89
45	0	$\hat{y} = -0,6914x + 14,716$	0,85
	1	$\hat{y} = -0,0789x + 2,7736$	0,82
	2	$\hat{y} = 0,0101x + 0,0482$	0,59

n = 3 repetições, foram tomados em conta 3 pontos para a plotagem da gráfica.

Tabela 11. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para o teor de epicatequina de polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x)

Temperatura (°C)	Ordem	Equações ajustadas	R ²
25	0	$\hat{y} = -2,4771x + 98,063$	0,96
	1	$\hat{y} = -0,0302x + 4,5952$	0,95
	2	$\hat{y} = 0,0004x + 0,01$	0,94
35	0	$\hat{y} = -2,4963x + 90,5390$	0,76
	1	$\hat{y} = -0,0312x + 4,5004$	0,80
	2	$\hat{y} = 0,0003x + 0,0117$	0,75
45	0	$\hat{y} = -2,8191x + 86,619$	0,77
	1	$\hat{y} = -0,0384x + 4,4598$	0,84
	2	$\hat{y} = 0,0005x + 0,0115$	0,89

n = 3 repetições, foram tomados em conta 3 pontos para a plotagem da gráfica.

Tabela 12. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para o teor de vitamina C de polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x)

Temperatura (°C)	Ordem	Equações ajustadas	R ²
25	0	$\hat{y} = -0,3415x + 21,996$	0,94
	1	$\hat{y} = -0,0171x + 30,093$	0,95
	2	$\hat{y} = 0,0009x + 0,0452$	0,95
35	0	$\hat{y} = -0,3375x + 21,733$	0,93
	1	$\hat{y} = -0,0170x + 3,0803$	0,94
	2	$\hat{y} = 0,0009x + 0,0459$	0,95
45	0	$\hat{y} = -0,3409x + 21,612$	0,91
	1	$\hat{y} = -0,0172x + 0,0743$	0,92
	2	$\hat{y} = 0,0009x + 0,0462$	0,93

n = 3 repetições, foram tomados em conta 3 pontos para a plotagem da gráfica.

Tabela 13. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para a atividade antioxidante pelo método FRAP de polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x)

Temperatura (°C)	Ordem	Equações ajustadas	R ²
25	0	$\hat{y} = -7,7355x + 194,66$	0,97
	1	$\hat{y} = -0,0518x + 5,288$	0,99
	2	$\hat{y} = 0,00036x + 0,0049$	0,99
35	0	$\hat{y} = -7,5887x + 189,81$	0,94
	1	$\hat{y} = -0,0519x + 5,2605$	0,98
	2	$\hat{y} = 0,00037x + 0,0051$	0,99
45	0	$\hat{y} = -7,7848x + 186,8$	0,93
	1	$\hat{y} = -0,0547x + 5,2453$	0,97
	2	$\hat{y} = 0,00040x + 0,0051$	0,99

n = 3 repetições, foram tomados em conta 3 pontos para a plotagem da gráfica.

Tabela 14. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para a atividade antioxidante pelo método ORAC de polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x)

Temperatura (°C)	Ordem	Equações ajustadas	R ²
25	0	$\hat{y} = -39,502x + 1205,1$	0,84
	1	$\hat{y} = -0,0445x + 7,1238$	0,80
	2	$\hat{y} = 0,000052x + 0,0008$	0,74
35	0	$\hat{y} = -44,376x + 1050,6$	0,84
	1	$\hat{y} = -0,0574x + 6,9792$	0,87
	2	$\hat{y} = 0,000078x + 0,0009$	0,86
45	0	$\hat{y} = -53,419x + 1086,5$	0,94
	1	$\hat{y} = -0,0716x + 7,0283$	0,94
	2	$\hat{y} = 0,000102x + 0,0008$	0,88

n = 3 repetições, foram tomados em conta 3 pontos para a plotagem da gráfica.

Tabela 15. Equações de regressão dos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem para a aceitação de polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* armazenada nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C em função do tempo (x)

Temperatura (°C)	Ordem	Equações ajustadas	R ²
25	0	$\hat{y} = -0,0717x + 6,4733$	0,69
	1	$\hat{y} = -0,0114x + 1,8678$	0,69
	2	$\hat{y} = 0,0018x + 0,1545$	0,68
35	0	$\hat{y} = -0,1067x + 6,2367$	0,91
	1	$\hat{y} = -0,0180x + 1,8307$	0,92
	2	$\hat{y} = 0,0030x + 0,1602$	0,92
45	0	$\hat{y} = -0,1567x + 6,4867$	0,92
	1	$\hat{y} = -0,0265 + 1,872x$	0,91
	2	$\hat{y} = 0,0045x + 0,1534$	0,89

n = 30 avaliadores, , foram tomados em conta 3 pontos para a plotagem da gráfica.

Apresentam-se, na Tabela 16, os valores de E_a (energia de ativação) obtidos para os três grupos de variáveis qualitativas da polpa pasteurizada de *P. setacea* submetida a testes acelerados, nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C. O grupo i foi formado pelos diferentes compostos do perfil de flavonoides e vitamina C. Entretanto, para o grupo i, somente foram obtidos os valores de E_a para isoorientina, vitexina e epicatequina. No que se refere aos compostos orientina e isovitexina, optou-se por não calcular E_a , pois não foi observado aumento contínuo do módulo de k (constante da taxa de reação) à medida que se elevou a temperatura de 25 para 45 °C, considerando-se o modelo cinético de primeira ordem. Para esses dois compostos, o maior valor de k (em módulo) foi obtido a 35 °C. Com relação à vitamina C, não houve diferença expressiva nos valores de k com o aumento da temperatura, com valores de k (em módulo) para o modelo cinético de primeira ordem, entre 0,0170 e 0,0172. Para o grupo i, o maior valor de E_a foi de 5508,36 cal mol⁻¹, obtido quando se analisou a isoorientina. Por outro lado, o menor valor de E_a foi calculado para a vitexina, sendo equivalente a 2198,81 cal mol⁻¹. Ressalta-se que E_a é definida como a quantidade de energia requerida para uma determinada reação, e quanto menor o seu valor, mais rápida é a reação (CALIXTO, 2013; JAFARI et al. 2017).

Tabela 16. Energia de ativação estimada (E_a , cal mol⁻¹) das diferentes variáveis dos grupos i, ii e iii referentes à polpa pasteurizada de *P. setacea* submetida a testes acelerados

Grupos	Variáveis	E_a (cal mol ⁻¹)
i	Isoorientina (mg/100g)	5508,36
	Vitexina (mg/100g)	2198,81
	Epicatequina (mg/100g)	2245,11
ii	ORAC (μmol equi. Trolox/100g)	4483,86
iii	Aceitação	8642,85

Grupo i – referente ao perfil de flavonoides e à vitamina C; Grupo ii – referente à atividade antioxidante; e Grupo iii – referente à análise sensorial (aceitação).

Quanto às variáveis do grupo ii (atividade antioxidante), calculou-se E_a somente para ORAC, com valor equivalente a 4483,86 cal mol⁻¹ (Tabela 16). No que se refere a atividade

antioxidante por FRAP, verificou-se valores de k relativamente próximos para as temperaturas de 25 e 35 °C, o que impossibilitou o correto ajuste desses dados ao modelo de Arrhenius. Para essa variável, os valores em módulo de k para o modelo cinético de primeira ordem foram iguais a 0,0518 e 0,0519, para 25 e 35 °C, respectivamente. Com relação a E_a obtida para a aceitação (grupo iii – análise sensorial) da polpa pasteurizada de *P. setacea* (Tabela 16), obteve-se valor igual a 8642,85 cal mol⁻¹, sendo o maior obtido dentre todas as variáveis analisadas.

Apresentam-se, na Tabela 17, os tempos referentes à vida de prateleira da polpa de *P. setacea*, considerando-se os diferentes grupos de variáveis, nas temperaturas de 25, 35 e 45 °C, além da temperatura de -15°C (obtidas por extrapolação). Com relação às variáveis do grupo i, enquanto que para isoorientina, foram estimados valores de vida de prateleira, para o intervalo entre 25 °C (10 dias) e 45 °C (5,6 dias), para epicatequina, verificou-se as maiores vidas de prateleira, com variação entre 14,7 dias (45 °C) e 18,6 dias (25 °C). Por outro lado, quando se analisou a vida de prateleira a -15 °C, o menor valor (18,3 dias) foi obtido quando se considerou a vitexina. A maior vida de prateleira foi estimada quando se considerou a isoorientina, sendo equivalente a 42,2 dias.

Tabela 17. Estimativa de vida de prateleira da polpa pasteurizada de *Passiflora setacea* em diferentes temperaturas.

Grupos	Variável	Equações ajustadas*	R ²	Q ₁₀	Temperatura (°C)	Vida de prateleira (dias)
I	Isoorientina	$\hat{y} = -0,1273x + 4,1399$	0,97	-	45	5,6
				1,33	35	7,4
				1,35	25	10,0
				1,49	-15	42,2**
	Vitexina	$\hat{y} = -0,1176x + 1,9648$	0,86	-	45	8,2
				1,12	35	9,1
				1,13	25	10,3
				1,17	-15	18,3**
	Epicatequina	$\hat{y} = -0,0384x + 4,4598$	0,84	-	45	14,7
				1,12	35	16,5

				1,13	25	18,6
				1,18	-15	33,5**
				-	45	9,2
Ii	ORAC	$\hat{y} = -0,0716x + 7,0283$	0,94	1,33	35	12,3
				1,35	25	16,6
				1,49	-15	70,0**
				-	45	9,9
Iii	Aceitação	$\hat{y} = -0,0265 + 1,872x$	0,91	1,50	35	14,9
				1,55	25	23,0
				1,78	-15	184,5**

* Para o modelo cinético de primeira ordem, considerando $\ln(C)$, sendo C o valor obtido para a variável analisada.

** Valores estimados por extrapolação.

No que tange à vida de prateleira obtida a partir de ORAC (atividade antioxidante – grupo ii), foram obtidos valores superiores, para a faixa de temperatura entre 25 e 45 °C, quando se comparam com os resultados obtidos para isorientina e vitexina. Com relação à vida de prateleira a -15 °C, estimou-se a vida de prateleira em 70,0 dias, superior a todos os valores obtidos para as variáveis do grupo i. Quanto ao grupo iii, que se refere à aceitação da polpa de *P. setacea*, é possível destacar a maior vida de prateleira (23,0 dias), quando se considerou a temperatura de 25 °C, em comparação com as demais variáveis analisadas. Essa tendência foi intensificada quando se analisou as vidas de prateleira à -15 °C. Enquanto a vida de prateleira estimada, a -15 °C, foi de 184,5 dias quando se considerou a aceitação da polpa de *P. setacea*, estimou-se em 18,3 dias, para vitexina.

Ainda referente às vidas de prateleira apresentadas na Tabela 17, é importante comparar os valores obtidos com aqueles referentes à análise microbiológica. Considerando-se a contagem bolores e leveduras (Tabela 3), a polpa pasteurizada de *P. setacea* atendeu o padrão estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 2000) pelo menos 12 dias a 25 °C, e por 8 e 10 dias, nas temperaturas 35 e 45 °C respectivamente. Na temperatura de 25 °C, a vida de prateleira estimada, considerando-se a contagem de bolores e leveduras, foi superior àquelas obtidas quando se consideraram isorientina (10,0 dias) e vitexina (10,3 dias). A 35 °C, as vidas de prateleira para epicatequina (16,5 dias), atividade antioxidante por ORAC (12,3 dias) e aceitação (14,9 dias) foram superiores àquela obtida a partir da contagem de bolores e leveduras

(8 dias) na polpa pasteurizada de *P. setacea*. Leizeron e Shimoni (2005) também utilizaram diferentes variáveis para estimar a vida de prateleira de suco de laranja pasteurizado (90 °C/50 s) e armazenado a 4 °C. Esses autores utilizaram critério microbiológico, concentração de vitamina C e análise sensorial. Diferentemente dos resultados obtidos no presente estudo, a análise sensorial implicou na menor vida de prateleira (50 dias), enquanto para a qualidade microbiológica e para a concentração de vitamina C foram estimadas vidas de prateleira iguais a 105 e 79, respectivamente.

4. Conclusão

De acordo com os resultados obtidos, é possível concluir que: i) o modelo cinético de primeira ordem descreveu adequadamente as diferentes variáveis qualitativas da polpa pasteurizada de *P. setacea* submetida a testes acelerados durante o armazenamento; ii) os menores valores de energia de ativação foram obtidos quando se analisou vitexina e epicatequina, variáveis pertencentes ao grupos dos flavonoides indicando que estes compostos não são afetados pela temperatura como que os demais ; iii) a menor vida de prateleira estimada para polpa pasteurizada de *P. setacea* armazenada a 5 °C foi de 18 dias, quando se considerou a variável vitexina, enquanto que a maior vida de prateleira foi de 184 dias, para análise sensorial.

REFERÊNCIAS

- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, RDC nº 331, 2019.
- BENZIE, I. F., STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76, 1996.
- BUVÉA, C; NECKEBROECKA, B; HAENENA, A; KEBEDEA, B; HENDRICKX, M; GRAUWETA, T; VAN LOEY, A. Combining untargeted, targeted and sensory data to investigate the impact of storage on food volatiles: A case study on strawberry juice. *FOOD RESEARCH INTERNATIONAL*, 113. p. 382–391, 2018.
- BRAGA, M.; JUNQUEIRA, T.; FALEIRO, F. Frutas Nativas da Região Centro-Oeste do Brasil: MARACUJÁ-DO CERRADO. Brasília: Editora Embrapa. Capítulo 13, 320 p, 2006.
- CALIXTO, E. Chapter 2 - Accelerated Test and Reliability Growth Analysis Models Gas and Oil Reliability Engineering. Editora: Gulf Professional Publishing. p. 63-118, 2013.
- CARVALHO, M.; OLIVEIRA, MELO, L. Pre-harvest factors related to the sensory profile of *Passiflora setacea* nectars, a wild passion fruit from Brazilian savannah. *JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE*. Brasilia, p. 5711-5722, 2018.
- CELESTINO, S; SANCHEZ, B. Construção e operação de um sistema de pasteurização de bancada para alimentos líquidos: Comunicado Técnico. Planaltina - Df: Embrapa, p. 14, 2018.
- DE CARVALHO, M. V. O., DE OLIVEIRA, L. L., & COSTA, A. M. Effect of training system and climate conditions on phytochemicals of *Passiflora setacea*, a wild *Passiflora* from Brazilian savannah. *Food Chemistry*, 266, 350-358, 2018.
- DE CARVALHO, I. Microbiologia dos alimentos. Escola Técnica Aberta do Brasil. p- 81-82, 2010.
- DOS REIS, L.; PESAMOSCA, E.; FLÔRES, S.; RIOS, A. Stability of functional compounds and antioxidant activity of fresh and pasteurized orange passion fruit (*Passiflora caerulea*) during cold storage. *Food Research International*, v. 106, p. 481-486, 2018.
- EMBRAPA. Lançamento da cultivar de maracujazeiro silvestre BRS Pérola do Cerrado, 2013.
- FILARDI, L.; Brazilian Flora 2020: Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). *Rodriguésia*, Rio de Janeiro, v. 69, n. 4, p. 1513-1527, 2018.

GRIZOTTO, R.; BERBARI, A.; MOURA, S.; CLAUS, M. Estudo da vida-de-prateleira de fruta estruturada e desidratada obtida de polpa concentrada de mamão. *Food Science and Technology*, v. 26, n. 3, p. 709-714, 2016.

HOFFMANN, J.; ZANDONÁ, G.; SILVEIRA DOS SANTOS, P.; DALLMANN, C.; MADRUGA, F.; ROMBALDI, C.; CHAVES, F. Stability of bioactive compounds in Butiá (*Butia odorata*) fruit pulp and néctar. *Food Chemistry*. p. 638;644, 2017.

IFST. Shelf Life of Foods – Guidelines for its Determination and Prediction. London: Institute of Food Science & Technology, 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRÁFICO E ESTATÍSTICA. Levantamento sistemático da produção agrícola, 2018.

JAFARI, S; GANJE, M; DEHNAD, D; GHANBARI, V; HAJITABAR, J. Arrhenius Equation Modeling for the Shelf Life Prediction of Tomato Paste Containing a Natural Preservative. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97 (15), 2017.

KILCAST, D.; SUBRAMANIAM, P. The stability and shelf-life of food. WOODHEAD. PUBLISHING LIMITED, Cambridge. p. 1-12, 2000.

KOCH, I.S.; MULLER, N.; DE BEER, D.; NÆS, T.; JOUBERT, E. Impact of steam pasteurization on the sensory profile and phenolic composition of rooibos (*Aspalathus linearis*) herbal tea infusions. *FOOD RESEARCH INTERNATIONAL*. 53. p. 704-712, 2013.

LARRAURI, J. A., RUPÉREZ, P., SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 45, 1390-1393, 1997.

LEIZERSON, SH.; SHIMON, E. Stability and Sensory Shelf Life of Orange Juice Pasteurized by Continuous Ohmic Heating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, p. 4012–4018, 2005.

LONDOÑO, M.; RAMOS, A.; ALZATE, A.; ROJANO, B.; CELIS, M. Behavior of bioactive compounds and antioxidant activity of mango (*Azucar cultivar*) juice during storage at 4 °C. *REVISTA FACULTAD NACIONAL DE AGRONOMÍA MEDELLÍN*, 72(1), 8743-8750, 2019.

MAPA. Instrução Normativa nº 01, de 07/01/00. Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. República Federativa do Brasil, Brasília, Seção I, p.54-58, 2000.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S; GONZÁLEZ-GALLEGO, J; CULEBRAS, J; TUÑÓN, M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes-Revisión. *Nutrición Hospitalaria*, XVII (6). p. 271-278, 2002.

PINELI, L.; MORETTI, C.; CHIARELLO, M.; MELO, L. Influence of strawberry jam color and phenolic compounds on acceptance during storage. *Revista Ceres*, v. 62, n.3, p. 233-240, 2015.

PULIDO, R., BRAVO, L., SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3396-3402, 2000.

PRIOR, R. L., WU, X., SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 4290-4302, 2005.

SANCHEZ, B; CELESTINO, S; GLORIA, M; CELESTINO, I; LOZADA, M; ARAÚJO, S; DE ALENCAR, E; OLIVEIRA, L. Pasteurization of passion fruit *Passiflora setacea* pulp to optimize bioactive compounds retention. *FOOD CHEMISTRY: X*, 6, 2020.

TEMBO, D.; HOLMES, M.; MARSHALL, L. Effect of thermal treatment and storage on bioactive compounds, organic acids and antioxidant activity of baobab fruit (*Adansonia digitata*) pulp from Malawi. *JOURNAL OF FOOD COMPOSITION AND ANALYSIS*. P. 40-51, 2017.

TOUATI, N.; BARBA, F.; LOUAILECHE, H.; FRIGOLA, A.; ESTEVE, M. Effect of storage time and temperature on the quality of fruit nectars: determination of nutritional loss indicators. *Journal of Food Quality*, 39, 209–217, 2016.

WANG, H., CAO, G., PRIOR, R. L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 304-309, 1997.

ZHI, N; ZONG, K; THAKUR, K; QU, J; SHI, J; YANG, J; YAO, J, WEI, Z. Development of a dynamic prediction model for shelf-life evaluation of yogurt by using physicochemical, microbiological and sensory parameters, *CyTA. JOURNAL OF FOOD*. p. 42-49. 2017.

CONCLUSÕES GERAIS

Os binômios de pasteurização selecionados para polpa de *P. setacea* foram 82 °C / 20 e 82 °C / 40 s por proporcionar alta atividade antioxidante, alto conteúdo TCF e valor de AER que permitiram uma ligeira separação de fases em suco preparado com polpa pasteurizada. Também foi selecionado o binômio de pasteurização LTLT, apesar de ter AER superior ao dos dois binômios anteriores; sua seleção é justificada pela facilidade de aplicação desse binômio nas pasteurizações utilizadas pelas pequenas agroindústrias. Os três binômios foram adequados para reduzir a carga microbiana da polpa.

As polpas pasteurizadas HTST 82 °C / 20s mantiveram os maiores níveis de atividade antioxidante, flavonoides, vitamina C, e não apresentaram diferença significativa com a polpa *in natura* de *P. setacea*. Em relação às polpas submetidas ao processo de pasteurização, pode-se afirmar que as polpas submetidas aos binômios de pasteurização rápida contribuíram para a melhora da aparência, pois os consumidores consideraram essas polpas homogêneas, as polpas pasteurizadas HTST 82 °C / 40s apresentaram sabor cozido, sendo um efeito negativo deste binômio para a qualidade da polpa.

As polpas pasteurizadas apresentaram uma maior redução na carga microbiana ao ser submetidas aos testes acelerados. Em geral os dados obtidos para as diferentes variáveis analisadas tiveram um ajuste adequado ao modelo cinético de primeira ordem. Finalmente as variáveis que foram consideradas para determinar a vida de prateleira de *P. setacea* foram atividade antioxidante (ORAC), aceitação global, isoorientina, vitexina e epicatequina, com valores de 70 dias, 184 dias e 42 dias, 18 dias e 33 dias, respectivamente. Portanto pode-se considerar que *P. setacea* é uma importante fonte de antioxidantes ao final de 18 dias armazenadas congeladas a -15 °C, sendo este tempo em que a vitexina se mantém sem se degradar totalmente. Considerando a vida de prateleira estimada de acordo com os padrões microbiológicos legais, de 10 dias, a retenção dos compostos bioativos é de 53,88 % (isoorientina), 0 % (orientina), 52,78 % (vitexina), 36,69 % (isovitexina), 38,92 % (epicatequina), 16,61 % (vitamina C), 44,61 % (FRAP), 47,65 % (ORAC).

ANEXOS

ANEXO 1. ANÁLISE DE VITAMINA C

Fonte: CAMPOS, F.M.; CHAVES, J.B.P.; DE AZEREDO, R.M.C.; OLIVEIRA, D.S.; PINHEIRO SANT'ANA, H.M.. Handling Practices to Control Ascorbic Acid and b- Carotene Losses in Collards (*Brassica oleracea*). Food Sci Tech Int, v. 15, n. 5, p. 445-452, 2009.

MATERIAL

pHmetro

Balões de 1000 mL Centrífuga Agitador

Balões volumétricos de 25 mL Falcons de 15 mL

Tubos de ensaio âmbar

Pipetas automáticas com ponteiros (1mL, 10mL) Vial (dois pra cada amostra)

Unidade filtrante HV millex, em polietileno, poro de 0,45 µm HPLC

REAGENTES

Solução H₂SO₄ 0,4 mol/L 90% (vol = 200 mL)

Adicionar 40 mL de água miliQ em um balão volumétrico de 200 mL imerso em banho de gelo.

Sobre a água, adicionar 1,22 mL de H₂SO₄ (pipeta de vidro) e completar o volume com água MiliQ.

Solução extratora: ácido metafosfórico (AMP) 3 % + ácido acético 8 % + ácido sulfúrico 0,3 N + EDTA 1 mM + H₂SO₄ 90 % (vol = 2000 mL)

Para 1000 mL de solução, proceder da seguinte forma:

AMP: dissolver 30 g de AMP em cerca de 200 mL de água ultrapura.

EDTA: dissolver 0,404 g de EDTA em de 100 mL de água ultrapura.

Medir 80 mL de ácido acético em proveta de 100 mL.

Transferir quantitativamente o AMP e o EDTA dissolvidos, para o balão contendo ácido acético.

Adicional aproximadamente 1 L de água milliQ. Adicionar o ácido acético previamente medido.

Adicionar lentamente 8 mL de H₂SO₄ 90 % ao mesmo balão volumétrico. Completar o volume do balão volumétrico (2 L) com água ultrapura.

Filtrar com funil de papel, transferindo para um vidro âmbar devidamente identificado. Fase móvel: NaH₂PO₄ 1 mM + EDTA 1 mM, com pH ajustado para 3,0 com H₃PO₄. (vol = 2000 mL)

Pesar 0,2759 g de NaH₂PO₄, Diluir em água ultrapura, transferir o conteúdo quantitativamente para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água ultrapura.

Dissolver 0,8089 g de EDTA em água ultrapura, transferir o conteúdo quantitativamente para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água ultrapura.

Transferir o conteúdo dos dois balões para um balão volumétrico de 2 L. Ajustar pH para 3.0 utilizando ácido fosfórico.

Filtrar com funil de papel, transferindo para um vidro âmbar devidamente identificado.

- Solução Trizma 0,5 mol/L (pH9,0) com DTT com 40 mmol/L (vol = 1 L)

Massa molar DTT = 154,253 g/mol

Massa molar Trizma= 121,14 g/mol

Pesar 60,57 g de Trizma (Sigma T1503) e diluir em cerca de 400 mL de água MiliQ sob constante agitação. Se necessário, usar ultrassom.

Pesar 6,1701 g de DTT e diluir em cerca de 50mL de água MiliQ.

Transferir as duas soluções para um balão volumétrico de 1L. Completar o volume para 1.000 mL com água Milli-Q.

Ajustar o pH com HCl ou NaOH. Ajustar pH final para 9,0.

Filtrar com funil de papel, transferindo para um vidro âmbar devidamente identificado.

PREPARO DO EXTRATO

Todos os procedimentos envolvidos no preparo do extrato devem ser realizados ao abrigo da luz (envolver as vidrarias em papel alumínio) e em banho de gelo.

Pesar 5 g de amostra in natura ou 2,0 g de amostra em um tubo falcon de 15 mL.

Homogeneizá-la com 10 mL da solução extratora, por 5 minutos em velocidade média.

Centrifugar a 5.000 rpm por 15 minutos.

Coletar o sobrenadante e colocá-lo em balão volumétrico de 25 mL.

Adicionar 10 mL de água mili-Q ao resíduo de amostra do falcon e homogeneizar por 5 minutos em velocidade média.

Centrifugar a 5.000 rpm por 15 minutos.

Coletar o sobrenadante, juntá-lo ao sobrenadante da primeira extração em balão volumétrico de 25 mL.

Completar o volume do balão com água mili-Q.

Filtrar o extrato para um vial utilizando unidade filtrante HV millex. Armazená-lo a 5°C até o momento da análise cromatográfica, a ser realizada no mesmo dia.

CONVERSÃO DE ÁCIDO DEHIDROASCÓRBICO EM ÁCIDO ASCÓRBICO

Pipetar 1 mL de extrato em frasco âmbar.

Adicionar 1 mL de solução tampão Trizma 0,5 M (pH 9,0), contendo DTT 40 mM; incubar por 15 minutos à temperatura ambiente e ao abrigo da luz;

Adicionar 0,5 mL de H₂SO₄ 0,4 M;

Filtrar em unidade filtrante HV millex para vial previamente identificado.

A quantificação de DHA será realizada pela diferença do conteúdo de AA total (após a conversão do DHA em AA) e do conteúdo de AA (antes da conversão do DHA).

CURVA-PADRÃO

Solução estoque de ácido ascórbico

Preparar uma solução estoque de ácido ascórbico (AA) na concentração de 1 mg/mL. Diluir o AA em água ultrapura.

A partir da solução estoque, preparar diferentes concentrações (em torno de 6), a partir da mistura da solução estoque com a solução extratora.

Filtrar as soluções em unidade filtrante HV millex, em polietileno, poro de 0,45 µm. Para a construção da curva-padrão, utilizar as diluições indicadas na Tabela de diluições a partir da solução estoque de 1mg/mL. O volume de injeção das diluições será de 30 µL.

Tabela de diluições a partir da solução estoque de 1mg/mL

(usando a fórmula $V_i.C_i = V_f.C_f$, sendo $C_i = 1000 \mu\text{g/mL}$, $C_f = 50$ a $200 \mu\text{g/mL}$ e $V_f = 2,0 \text{ mL}$, basta achar V_i)

Tabela 1 – Preparação do padrão ácido ascórbico.

Concentração	Volume solução estoque (µL)	Volume de solução extratora (µL)	Volume final (µL)
0	0	2000	2000
6,5	12,5	1987,5	2000
12,5	25	1975	2000
25	50	1950	2000
50	100	1900	2000
75	150	1850	2000
100	200	1800	2000

DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO

Fase móvel composta por NaH₂PO₄ 1mM + EDTA 1 mM, com pH ajustado para 3,0 com H₃PO₄.

Fluxo de 1 mL/min em eluição isocrática (mesmo sendo no modo isocrático, ao montar o método no HPLC shimadzu com detector SPD, deve-se indicar que será realizada eluição gradiente e colocar a concentração do solvente B como 100%), com volume de injeção de 15 µL, por 10 minutos.

Detecção realizada a 245 nm.

Separação realizada em coluna Lischospher 100 RP18, 250 nm x 4 mm, 5 µm (Merck, Alemanha).

Lavar coluna previamente com metanol 70%

Após corrida, lavar coluna colocando uma última leitura de vial com água milliQ e fazendo um método de lavagem com metanol 70% de 20 min.

A identificação do AA será realizada por comparação dos tempos de retenção obtidos das amostras com os obtidos para o padrão de AA analisado sob as mesmas condições, bem como com a comparação dos espectros de absorção, empregando-se o detector de arranjos de diodos.

ANEXO 2. ANÁLISE DE FENÓLICOS TOTAIS

Fonte: Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144-158.

MATERIAL

Espectrofotômetro com cubetas Tubos de ensaio

Pipetas automáticas com ponteiros (100 uL, 1 mL, 10 mL) Carbonato de sódio 20%

Folin-Ciocateau Ácido gálico

PREPARO DE SOLUÇÕES

1. Solução de carbonato de sódio a 20%

Pesar em um béquer de 100 mL 20 g de carbonato de sódio. Transferir para um balão de 100 mL com auxílio de 1 funil e de água destilada. Lavar o béquer 3 vezes com pequenas porções da água destilada. Completar o volume. Deixar descansar por 12 horas, filtrar e transferir para um frasco plástico. Armazenar em temperatura ambiente por tempo indeterminado.

2. Folin-Ciocateau 1:3

Em uma proveta, medir 50 mL do reagente Folin Ciocalteau e transferir para um frasco âmbar. Na mesma proveta, medir 150 mL de água destilada e acrescentar no mesmo frasco. Preparar no dia da análise.

Curva Padrão de Ácido gálico

Todos os procedimentos devem ser feitos ao abrigo da Luz.

Pesar 0,01g de ácido gálico. Transferir cuidadosamente para um balão volumétrico de 100 mL. Esta é a solução mãe (100µg/mL). Avolumar com água.

A partir da solução mãe, preparar diluições em triplicatas variando a concentração de 10 a 100 µg/mL.

TABELA 2. Curva padrão

Concentração (µg/mL)	Solução de ácido gálico (µL)	de Água destilada (µL)	Abs média
10	500	4500	0,178
20	1000	4000	0,360
30	1500	3500	0,528

40	2000	3000	0,685
50	2500	2500	0,868
60	3000	2000	1,033
70	3500	1500	1,194
80	4000	1000	1,313

Pipetar em triplicata 1 mL de cada diluição.

Pipetar 1 mL da solução Folin em cada repetição e no branco (1 ml de água destilada) Incubar por 1 minuto

Adicionar 2,0 mL de carbonato de sódio a 20% e 2 mL de água destilada. Incubar por 30 minutos a temperatura ambiente ao abrigo da luz.

Ler a absorbância a 700nm usar água destilada como branco.

Plotar em planilha as concentrações de ácido gálico ($\mu\text{g/mL}$) no eixo X e as respectivas absorbâncias no eixo Y e calcular a equação da reta.

Equação da reta: $y = 0,0164x + 0,03$, $R^2 = 0,998$

Análise de Fenólicos Totais

Diluir a amostra 1:4 (1 mL de extrato + 3 mL de água destilada) Pipetar em triplicata 1 mL da amostra diluída

Pipetar 1 mL da solução Folin em cada repetição e no branco (1 ml de água destilada) Incubar por 1 minuto

Adicionar 2,0 mL de carbonato de sódio a 20% e 2 mL de água destilada.

Homogeneizar e incubar por 30 minutos a temperatura ambiente ao abrigo da luz. Ler a absorbância a 700nm, usando água destilada como branco.

ANEXO 3. - ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL POR DPPH

Fonte: BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology, Londres, v.28, p.25-30. 1995. Com modificações.

MATERIAL

Bequer

Trolox

DPPH

Metanol Espectrofotômetro Água destilada

SOLUÇÕES

Solução de DPPH 0,06mM

Dissolver 2,4 mg de DPPH em álcool metílico e completar o volume para 100 mL em um balão volumétrico com álcool metílico, homogeneizar e transferir para um frasco de vidro âmbar, devidamente etiquetado. Preparar e usar apenas no dia da análise.

CURVA DE CALIBRAÇÃO DE TROLOX

Pesar 0,0125 g de Trolox em béquer de 10mL

Transferir quantitativamente (lavar o béquer com metanol 3 vezes) para balão de 50 mL (concentração de 998,84 μ M) e completar o volume com metanol. Esta é a solução Mãe

Diluir a solução mãe para obter as concentrações da tabela

Solução de Trolox (mL)	Solução de álcool Metílico (mL)	Concentração μ M	Abs média
0,25	3,75	50	0,662
0,5	3,5	100	0,623
1,0	3,0	200	0,551
1,5	2,5	300	0,470
2,0	2,0	400	0,402
2,5	1,5	500	0,354
3,0	1,0	600	0,272
3,5	0,5	700	0,219
4,0	0,0	800	0,172

Cada diluição deverá ser pipetada e lida em triplicata

Para cada concentração, pipetar 0,1 mL da diluição + 3,9mL de solução DPPH (0,06mM), incubar pelo tempo determinado no EC₅₀ e ler as absorvâncias.

Usar 4 cubetas, sendo 1 para o branco

BRANCO = 0,1 mL de água destilada + 3,9mL de metanol

TUBO CONTROLE: 0,1mL de água destilada e 3,9 mL de DPPH 0,06 mM. Ler a absorvância.

DETERMINAÇÃO DO TEMPO EC₅₀

Em ambiente escuro, transferir uma alíquota de 0,1 mL da diluição adequada do extrato para tubos de ensaio com 3,9 mL de DPPH (0,06 mM) e homogeneizar em agitador de tubos.

Realizar leitura da absorvância da solução controle.

Utilizar álcool metílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro.

As leituras das absorvâncias (515 nm) devem ser monitoradas a cada cinco minutos, onde é observada a redução da absorvância até sua estabilização. A leitura da absorvância final para o cálculo do EC₅₀ só deve ser feita após a estabilização da absorvância (tempo EC₅₀). Neste caso, as leituras foram realizadas após 30 minutos. Para experimentos posteriores, com uma mesma amostra, a leitura pode ser feita apenas no tempo estabelecido anteriormente (tempo EC₅₀), acompanhado, também, da leitura inicial do controle.

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Determinação da curva do DPPH

Em ambiente escuro, transferir uma alíquota de, aproximadamente, 4 mL de cada solução de DPPH (10 µM, 20 µM, 30 µM, 40 µM, 50 µM e 60 µM) para placas e realizar a leitura em espectrofotômetro a 515 nm. Utilizar álcool metílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro.

Plotar as concentrações de DPPH (M) no eixo X e as respectivas absorvâncias no eixo Y e calcular a equação da reta.

A partir dos extratos da polpa, preparar em tubos de ensaio três diluições diferentes em triplicata. Em ambiente escuro, transferir uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio com 3,9 mL do radical DPPH (item solução de DPPH 0,06 mM) e homogeneizar em agitador de tubos. Utilizar 0,1 mL da solução controle (item solução controle de álcool metílico, acetona e água) com 3,9 mL do radical DPPH e homogeneizar.

ANEXO 4. ANÁLISE DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL POR FRAP

FONTE: PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay. Journal Agriculture and Food Chemistry, v. 48, p. 3396-3402, 2000.

MATERIAL

HCl

TPTZ

Cloreto férrico

Tampão acetato

FRAP

Trolox

SOLUÇÕES

1. Solução de HCl 40mM

Adicionar 3,34 mL de HCl concentrado em balão volumétrico de 1 L e completar o volume com água destilada. Homogeneizar e armazenar em temperatura ambiente por tempo indeterminado.

2. Solução de TPTZ 10mM

Pesar 312mg de TPTZ e avolumar em balão volumétrico de 100 mL com HCl (40mM). Homogeneizar e armazenar sob refrigeração por até 1 mês.

3. Solução de Cloreto Férrico 20mM

Dissolver 540mg de cloreto férrico em água destilada, transferir para um balão volumétrico de 100 mL e completar até o volume final com água destilada. Homogeneizar e armazenar sob refrigeração por até 1 mês.

4. Tampão acetato 0,3M, pH 3,6

Em um béquer de 1000 mL, dissolver 40,8 g de acetato de sódio em 16 mL de ácido acético glacial. Adicionar 800 mL de água destilada e verificar o pH em pHômetro. Se necessário, ajustar pH com solução HCl 40mM. Transferir para um balão volumétrico de 1L e completar o volume final com água destilada. Homogeneizar e armazenar sobre refrigeração por tempo indeterminado.

5. Solução de reagente FRAP

Preparar o Reagente FRAP no momento da análise. O reagente FRAP é obtido a partir da combinação:

- 25mL de tampão acetato 0,3M;
- 2,5mL de solução TPTZ 10mM;
- 2,5mL de solução aquosa de cloreto férrico 20mM;

CURVA DE CALIBRAÇÃO DE TROLOX

Pesar 0,01 g de Trolox em béquer de 10mL.

Transferir quantitativamente (lavar o béquer com metanol 3 vezes) para balão de 50 mL (concentração de 800 μ M) e completar o volume com metanol. Esta é a solução Mãe

Diluir a solução mãe para obter as concentrações da tabela

Concentração μ M	Solução de Trolox (mL)	Solução de álcool Metílico (mL)	Abs média
50	0,25	3,75	0,058
100	0,5	3,5	0,149
200	1,0	3,0	0,286
300	1,5	2,5	0,418
500	2,5	1,5	0,655
800	4,0	0	1,081

Transferir, em triplicata, uma alíquota de 90 μ L de cada concentração para tubos de ensaio.

Acrescentar 270 μ L de água destilada;

Misturar 2,7mL de reagente FRAP;

Homogeneizar e manter em banho-maria a 37°C por 30 minutos. Realizar leitura a 595nm, utilizando o reagente FRAP como branco.

Plotar em planilhas as concentrações de Trolox (μ M) no eixo X, e as respectivas absorbâncias no eixo Y e calcular a equação da reta;

Equação da reta: $y = 0,001x + 0,013$ $R^2 = 0,989$

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Todos os procedimentos devem ser realizados ao abrigo da luz.

Diluir os extratos na proporção 1:20 (para polpa com semente). Esta é a diluição 100%.

Preparar as diluições 80% e 50% da seguinte forma;

a) 80% - pipetar 0,8 ml da amostra 100% (1/20) e 0,2 ml de água destilada.

b) 50% - pipetar 0,5 ml da amostra 100% (1/20) e 0,5 ml de água destilada. Para a reação:

Transferir uma alíquota de 90 μ L de cada diluição do extrato (100%, 80% e 50%) para tubos de ensaio (em triplicata)

Acrescentar 270 μ L de água destilada; misturar 2,7mL de reagente FRAP;

Homogeneizar e manter em banho-maria a 37°C por 30 minutos. Realizar leitura a 595nm, utilizando o reagente FRAP como branco.

A partir das absorbâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, plotar a absorbância no eixo Y e a diluição (mg/L) no eixo X. Em seguida, determinar a equação da reta.

ANEXO 5. QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES POR HPLC/CLAE

Fonte: ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in brazil and estimated ingestion by the brazilian population. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, p. 1124-1131, 2004.

MATERIAL

Balão volumétrico de 100 mL; Balões volumétricos de 10 mL;

Béquer;

Pipeta de 1000 μ L; Pipeta de 10000 μ L;

Unidade filtrante Millex Filtro 0,45 μ m diâmetro de poro;

Coluna C18 Synergi 4 μ Fusion RP (250 x 4,6 mm; 4 μ m) (Phoemenex, EUA); Padrões para calibração (epicatequina, orientina, vitexina, isovitexina, hesperitina e isorientina); Etanol grau HPLC;

Água destilada; Tetrahydrofurano grau HPLC;

Ácido trifluoroacético grau HPLC; Acetonitrila grau HPLC;

HCl;

BHT;

HPLC/CLAE com detector DAD; Vortex;

Centrifuga.

PREPARO DOS EXTRATOS

Pesar aproximadamente 5 g da amostra em um falcon de 15ml;

Adicionar 10 mL de solução extratora (etanol:água – 1:1) e homogeneizou-se em vortex.

Deixar em repouso em temperatura ambiente por 24 horas, ao abrigo da luz. Centrifugar a 4° C por 20 minutos.

Manter no -80° C até o dia da análise.

No dia da análise, descongelar ao abrigo da luz. Pipetar em um eppendorf 1 ml de extrato.

Solução BHT, preparada no mesmo dia: pesar 0,004g de BHT, transferir quantitativamente para balão de 10 ml com metanol 50% e, acrescentar 1,2 ml de HCl 1.2N e avolumar com metanol 50%.

Adicionar 0,25 mL de solução BHT no eppendorf contendo 1 mL de amostras e colocar para reagir no ultrassom por cinco minutos;

Filtrar (0,45 μ m de diâmetro de poro) e transferir pro vial.

PREPARO DOS PADRÕES PARA CURVA PADRÃO

Pesar 1 mg do padrão;

Preparar solução metanol 50% (1:1);

Dissolver os 1 mg em metanol 1:1 e transferir para balão volumétrico de 10 mL, e completar o volume com metanol 50% (0,1 mg/mL) [solução-mãe];

Para identificação do flavonoide, filtrar cada padrão separadamente. Para o mix, juntar partes iguais da solução mãe de cada padrão.

OBS: É importante fazer o mix porque muitas vezes os picos se unem na corrida, sendo necessário ajustar o método.

A partir do mix, preparar a curva padrão: Tabela 1 – Mix dos padrões

Concentração (mg/mL)	Volume de solução mãe (mL)	Volume de metanol (mL)
0,10	2	0
0,08	1,6	0,4
0,06	1,2	0,8
0,04	0,8	1,2
0,02	0,4	1,6
0,01	0,2	1,8

Fazer cada concentração em triplicata;

Tabela 2 – Preparação do padrão Hesperitina.

Concentração (µg/mL)	Volume de solução mãe (mL)	Volume de metanol (mL)
50	0,1	1,9
100	0,2	1,8
200	0,4	1,6
400	0,8	1,2
600	1,2	0,8
800	1,6	0,4
1000	2	0

ANÁLISE DE QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES POR HPLC

Para a análise, será utilizado o sistema Hewlet Packard 1100, constituído por injetor automático de amostras, bomba quaternária e detector de arranjo de diodo (DAD), controlados pelo software ChemStation.

Os cromatogramas serão obtidos utilizando λ 270, 340 e 380nm;

Para vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina, programar o método para utilizar gradientes de concentração (A) Água: Tetrahydrofurano: Ácido trifluoroacético (99,79:0,2:0,01) e (B) Acetonitrila, com 80% de a e 20% de B, com fluxo de 0,5ml/minuto por 25 minutos.

Para hesperitina, utilizar (A) Água: Tetrahydrofurano: Ácido trifluoroacético (99,79:0,2:0,01), com 70% de A de 30% de B, com fluxo de 0,7 ml/min por 25 minutos. Obs: Optou-se por fazer duas corridas separadamente, pois a mudança no gradiente de concentração estava desestabilizando a linha de base. Mas pode ser feita em uma única análise.

Para a limpeza da coluna após a corrida, a porcentagem inicial de solvente B é 90% por 30 minutos.

Para limpeza da coluna antes das análises, usar metanol 70% por 60 minutos. As amostras serão injetadas em triplicata.

ANEXO 6. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO- TCLE

Convidamos o(a) Senhor(a) a participar voluntariamente do projeto de pesquisa “Avaliação dos Efeitos do Processo Térmico na Qualidade Nutricional, Funcional e Sensorial da Polpa de *Passiflora Setacea*” sob a responsabilidade do pesquisador BEATRIZ ALEJANDRA ORTEGA SÁNCHEZ. O projeto é um primeiro estudo sobre os impactos nutricionais, funcionais e sensoriais dos tipos de pasteurização sobre a polpa de uma *passiflora* silvestre e poderá trazer informações relevantes sobre a viabilidade de se usar essa matéria-prima para gerar um alimento industrializado saudável e satisfatório para o consumidor, agregando valor à biodiversidade brasileira, além de realizar a divulgação da tecnologia mais adequada para os produtores da cadeia produtiva de *P.setacea*.

O objetivo desta pesquisa é avaliar o efeito do processamento térmico e do armazenamento da polpa de uma espécie de maracujá silvestre sobre as suas características nutricionais, funcionais, físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais.

O(a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não aparecerá sendo mantido o mais rigoroso sigilo pela omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

A sua participação se dará por meio de: a) um questionário para coleta de suas informações e dados de consumo de maracujá e bebidas feitas com o fruto; b) degustação de amostras de refrescos de *Passiflora setacea* com avaliação das amostras em ficha de avaliação apropriada.

O(a) senhor(a) receber 4 amostras de suco de maracujá codificadas com números em copos descartáveis de plástico branco. O(a) senhor(a) deverá indicar o quanto gosta ou desgosta da amostra, utilizando a escala disponível na ficha de teste de aceitação. Em seguida, para cada amostra, o(a) senhor(a) deverá marcar um “x” nas características apresentadas na ficha de análise sensorial que você achar que estejam muito presentes na amostra. A qualquer momento o(a) senhor(a) poderá esclarecer suas dúvidas com nossa equipe de pesquisa, que foi orientada para auxiliá-lo(a). A pesquisa será realizada na Faculdade de Saúde com um tempo estimado de 15 minutos para sua realização.

Os riscos que poderiam estar envolvidos nesta pesquisa, referentes a raras alergias alimentares, foram minimizados uma vez que você informou anteriormente na ficha de recrutamento não ter alergia alimentar a Maracujá. No entanto, haverá indenização por eventual dano causado pela pesquisa. A *Passiflora setacea* é um produto de uso popular e comercializado regionalmente, não sendo reportadas reações alérgicas associadas a seu consumo.

O(a) Senhor(a) pode se recusar a responder (ou participar de qualquer procedimento) qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a). Sua participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração.

Caso haja algum dano direto ou indireto decorrente de sua participação na pesquisa, você será indenizado, obedecendo-se as disposições legais vigentes no Brasil.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Universidade de Brasília podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais serão utilizados somente para esta pesquisa e ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de cinco anos, após isso serão destruídos.

Se o(a) Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para, Beatriz Alejandra Ortega Sánchez (61) 98160-4776 , ou Lívia Pineli (61)92674818, a qualquer momento, podendo ser realizadas ligações a cobrar.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde (CEP/FS) da Universidade de Brasília. O CEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser esclarecidos pelo telefone (61) 3107-1947 ou do e-mail cepfs@unb.br ou cepfsunb@gmail.com, horário de atendimento de 10:00hs às 12:00hs e de 13:30hs às 15:30hs, de segunda a sexta-feira. O CEP/FS se localiza na Faculdade de Ciências da Saúde, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Asa Norte.

Caso concorde em participar, pedimos que assine este documento que foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o Senhor (a).

Nome / assinatura

Pesquisador Responsável

Nome e assinatura

ANEXO 7. FICHA DE RECRUTAMENTO

IMPORTANTE: AS INFORMAÇÕES CONTIDAS NESTE QUESTIONÁRIO SÃO CONFIDENCIAIS.

Ser um provador não exigirá de você nenhuma habilidade excepcional, não tomará muito do seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. Este questionário consiste em uma avaliação básica de suas aptidões sensoriais e de suas condições médicas/de saúde, para a realização do teste sensorial. Se você deseja participar, por favor, preencha este formulário assinando-o no final. Caso você atenda aos requisitos mínimos necessários, você será convidado a participar do teste sensorial.

Dados pessoais:

Nome: _____

Endereço: _____

Telefone: _____ Celular: _____ Trabalho: _____

Idade: _____ Sexo: _____

Estado civil: _____ Filhos: _____

Condições médicas:

Você apresenta:

- () Diabetes
- () Colesterol alto
- () Rinite crônica
- () Desordens do sistema nervoso central
- () Deficiências visuais severas

Outros/comentários: _____

Você fuma?

() Sim. Quantos cigarros você fuma por dia? _____ () Não

Você toma medicamento (s) que afeta(m) algum(ns) de seus sentidos?

() Sim. Qual: _____ () Não

Por favor, indique se algum dos alimentos abaixo te causa desconforto ou alergia:

- Chocolate Ovos Nozes/Castanhas
 Leite Frutas (qual): _____
 Soja Outros: _____

Você está fazendo alguma dieta especial?

- Diabética Baixo teor de sódio/sal
 Vegetariana Nenhuma
 Baixo teor de calorias Outra: _____

Você gosta de suco de maracujá?

- Sim Mais ou menos Não

Com que frequência você consome suco de maracujá?

- 1 ou mais vezes por semana
 1 ou mais vezes por mês
 1 ou mais vezes a cada 3 meses
 1 ou mais vezes a cada 6 meses
 Raramente

Nos últimos 3 meses, quantas vezes você consumiu suco de maracujá?

- Nenhuma vez 2 vezes
 1 vez 3 ou mais vezes

Assinatura: _____

Data: ___/___/___

ANEXO 8. FICHA REPERTORY GRID

Levantamento de atributos para análise de suco de maracujá.

Nome: _____ Data: ___ / ___ / ___

Por favor, avalie as amostras de suco e indique similaridades e diferenças entre as amostras quanto à aparência, sabor, aroma e textura.

Amostras	Similaridades	Dissimilaridades
455 e 320 (ex.)	Aparência: Aroma: Sabor: Consistência - Textura:	Aparência: Aroma: Sabor: Consistência - Textura:
540 e 098 (ex.)	Aparência: Aroma: Sabor: Consistência - Textura:	Aparência: Aroma: Sabor: Consistência - Textura:
650 e 130 (ex.)	Aparência: Aroma: Sabor: Consistência - Textura:	Aparência: Aroma: Sabor: Consistência - Textura:
720 e 287 (ex)	Aparência: Aroma: Sabor: Consistência - Textura:	Aparência: Aroma: Sabor: Consistência - Textura:

ANEXO 9. ESCALA HEDÔNICA E CATA

Nome: _____ Data: / /

Por favor, prove a amostra à sua frente e a avalie utilizando as notas (1 a 9) para descrever o quanto você gostou ou desgostou do refresco de maracujá. Beba água após a degustação, após chame o pesquisador.

Código da amostra:

NOTAS:

- (9) Gostei extremamente
- (8) Gostei moderadamente
- (7) Gostei regularmente
- (6) Gostei ligeiramente
- (5) Não gostei, nem desgostei
- (4) Desgostei ligeiramente
- (3) Desgostei regularmente
- (2) Desgostei moderadamente
- (1) Desgostei extremamente

Atributo	NOTA
Aparência	
Sabor	
Aroma	
Textura	
Aceitação global	

Comentários: _____

Ainda em relação à amostra acima, prove-a, análise e marque os termos que você julga apropriados para descrevê-la - ESTA AMOSTRA DE REFRESCO DE MARACUJÁ TEM COMO CARACTERÍSTICAS MARCANTES:

Aparência			
<input type="checkbox"/> esbranquiçado	<input type="checkbox"/> brilho	<input type="checkbox"/> homogêneo	<input type="checkbox"/> turvo
<input type="checkbox"/> partículas em suspensão			
Aroma			
<input type="checkbox"/> aroma suave de maracujá	<input type="checkbox"/> insosso	<input type="checkbox"/> aroma de maracujá	<input type="checkbox"/> azedo
<input type="checkbox"/> floral	<input type="checkbox"/> aroma forte de maracujá	<input type="checkbox"/> adocicado	
Cor			
<input type="checkbox"/> amarelo claro	<input type="checkbox"/> amarelo pardo	<input type="checkbox"/> amarelo escuro	<input type="checkbox"/> amarelo
Sabor			
<input type="checkbox"/> muito ácido	<input type="checkbox"/> sabor de fruta passada	<input type="checkbox"/> desagradável	<input type="checkbox"/> Sabor artificial
<input type="checkbox"/> pasteurizado-cozido	<input type="checkbox"/> adstringente	<input type="checkbox"/> ácido	<input type="checkbox"/> fruta madura
<input type="checkbox"/> agradável	<input type="checkbox"/> sabor de maracujá	<input type="checkbox"/> amargo	
Textura			
<input type="checkbox"/> diluído-fluido-ralo	<input type="checkbox"/> viscoso- encorpado	<input type="checkbox"/> granuloso	<input type="checkbox"/> aveludado

ANEXO 10. ACEITAÇÃO GLOBAL

Nome: _____ Data: / /

Em relação às amostras, prove-as, analise e coloquei uma nota da escala hedônica em relação à Aceitação global:

NOTAS:

- (9) Gostei extremamente
- (8) Gostei moderadamente
- (7) Gostei regularmente
- (6) Gostei ligeiramente
- (5) Não gostei, nem desgostei
- (4) Desgostei ligeiramente
- (3) Desgostei regularmente
- (2) Desgostei moderadamente
- (1) Desgostei extremamente

Código de Amostra	Nota
180	
331	
208	
048	
739	
698	
108	
194	
356	
951	
229	
582	
714	

Comentários: _____

APÊNDICE



Pasteurization of passion fruit *Passiflora setacea* pulp to optimize bioactive compounds retention

Beatriz Alejandra Ortega Sanchez^{a,*}, Sonia Maria Costa Celestino^b,
 Maria Beatriz de Abreu Gloria^c, Isadora Costa Celestino^d, María Isabel Ordóñez Lozada^a,
 Samuel Dias Araújo Júnior^e, Ermandes Rodrigues de Alencar^f, Livia de Lacerda de Oliveira^g

^a Post-Graduation Program in Human Nutrition, College of Health Sciences, University of Brasília, Brazil

^b Laboratory of Food Science and Technology, Embrepa Cerradas, Brazil

^c Laboratory of Food Biochemistry, Federal University of Minas Gerais, Brazil

^d Department of Pharmacy (Phac), University of Brasília, Brazil

^e College of Health and Medicine, Catholic University of Brasília, Brazil

^f College of Agronomy and Veterinary, University of Brasília, Brazil

ARTICLE INFO

Chemical compounds studied in this article:

DHPH: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
 (PubChem CID: 74358)
 TPZ: 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine
 (PubChem CID: 77258)
 Ascorbic acid (PubChem CID: 5469067)
 Putrescine (PubChem CID: 1045)
 Spermidine (PubChem CID: 1102)
 Arginine (PubChem CID: 199)
 Ornicarn (PubChem CID: 5281675)
 Homocarn (PubChem CID: 114776)
 Vitamin (PubChem CID: 5280441)
 Isovitamin (PubChem CID: 162856)
 Hesperidin (PubChem CID: 72281)
 Epicatechin (PubChem CID: 72276)

Keywords:

Bioactive compounds
 Thermal process
 Food quality
 Sensory analysis
Passiflora setacea

ABSTRACT

Passiflora setacea is a wild species of passion fruit with interesting functional properties. Fruit seasonality demands conservation methods to enable its consumption throughout the year. We evaluated High Temperature Short Time (HTST) and Low Temperature Long Time (LTLT) binomials on physical, chemical, antioxidant and sensory characteristics of *Passiflora setacea* pulps. In natura (IN) and pasteurized pulps were analyzed for DPPH, FRAP, ORAC, total phenolic content (TPC), vitamin C, bioactive amines, flavonoids, color, remaining enzymatic activity (REA), microbiological analyzes, sensory evaluation and physical stability. All binomials reached microbiological standards. Binomials 82 °C/20 s and 82 °C/40 s were selected for providing higher total antioxidant activity (TAA), TPC and lower REA. The highest levels of antioxidant activity, flavonoids, vitamin C were kept by 82 °C/20 s, without difference from IN pulp. LTLT binomial showed higher retention of bioactive amines, but also higher REA. Sensory acceptance was not affected by the binomials but pasteurized-cooled flavor was more checked for 82 °C/40 s than IN pulp.

1. Introduction

The study of ecosystems and their species contribute to food and nutritional security. Among the native plants of the Brazilian savannah, the botanical genus *Passiflora* stands out by presenting great diversity of species and varieties. It is believed that there are more than 400 species found naturally in tropical America, of which approximately 150 occur in Brazil and 70 produce edible fruits (Faleiro, Junqueira, & Braga, 2005).

The native and wild species of *Passiflora* have great potential for in natura (IN) consumption, as ornamental plant, medicinal, functional food and use by the cosmetic and food industries thanks to the variety of compounds found (Perdomo, 2016). Despite the richness of diversity and benefits, only the species *Passiflora edulis* Sims, the regular passion fruit, is produced on a commercial scale, as processed juice. The species *Passiflora setacea*, from the Brazilian savannah, presents great potential for consumption due to the pleasant and sweet aroma of the fruits. According to popular knowledge, leaves and fruits of this plant would

* Corresponding author.

E-mail addresses: ortegaaja30@gmail.com, aljaor_19@hotmail.com (B.A.O. Sanchez), ortegaaja30@gmail.com (L. de Lacerda de Oliveira).

<https://doi.org/10.1016/j.foodx.2020.100084>

Received 23 August 2019; Received in revised form 3 February 2020; Accepted 5 March 2020

Available online 06 March 2020

2590-1575/ © 2020 The Authors. Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).