



**6º Simpósio
de Segurança
Alimentar**

Desvendando Mitos

15 a 18 de maio de 2018

FAURGS • Gramado • RS

EFEITO DA TERMOSONICAÇÃO SOBRE PARÂMETROS DE QUALIDADE EM SUCO DE BERGAMOTA

L.L. Alves¹, B.L. Bayer¹, R.L. dos Santos¹, A.L.M. Devens¹, M.A. Monego², A.J. Cichoski²

1- Instituto Federal Farroupilha – Campus Panambi – CEP 98280-000 – Panambi – RS – Brasil, Telefone/Fax: +55 (55) 3376-8800 – email: (larissa.alves@iffarroupilha.edu.br)

2- Depto. Tecnologia e Ciência de Alimentos – Universidade Federal de Santa Maria – CEP 97105-9000 - Santa Maria – RS – Brasil, Telefone/Fax: +55 (55) 3220 8254.

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do uso da termossonicação (ultrassom associado a temperatura) sobre características microbiológicas, pH, acidez titulável, sólidos solúveis totais (SST) e parâmetros instrumentais de cor (L^* , a^* , b^*) em suco de bergamota. Alíquotas de suco foram sonicadas em banho de US (35 kHz, 500 W) a 60 °C e a 70 °C por 5 min ou 10 min. Suco não sonificado submetido à pasteurização (90 °C/2 min) foi usado como controle. Não houve crescimento na contagem total em placas, bolores e leveduras e coliformes totais/termotolerantes em nenhum dos tratamentos. Valores de pH e de acidez titulável não foram afetados ($P>0,05$). A termossonicação reduziu L^* e aumentou SST e parâmetros de cor a^* e b^* ($P<0,05$), principalmente a 70 °C e/ou tempo 10 min. A termossonicação foi eficiente na eliminação de micro-organismos, ao mesmo tempo em que melhorou características de cor do suco de bergamota.

ABSTRACT - The aim of this work was to evaluate the effect of thermosonication (ultrasound associated with temperature) on microbiological characteristics, pH, titratable acidity, total soluble solids (TSS) and instrumental parameters of color (L^* , a^* , b^*) in tangerine juice. Juice aliquots were sonicated in US bath (35 kHz, 500 W) at 60 °C and 70 °C for 5 min or 10 min. No sonicated juice submitted to conventional pasteurization (90 °C/2 min) was used as control. There was no increase in total plate counts, molds and yeasts and total / thermotolerant coliforms in any of the treatments. pH values and titratable acidity were not affected ($P>0.05$). Thermosonication reduced L^* and increased TSS and L^* , a^* and b^* color parameters ($P<0.05$), mainly at 70 °C and / or 10 min. Thermosonication was efficient in the elimination of microorganisms, while improving color characteristics of tangerine juice.

PALAVRAS-CHAVE: ultrassom; bactéria; bolores; leveduras; tecnologias emergentes.

KEYWORDS: ultrasound; bacteria; molds; yeasts; emergent technologies.

1. INTRODUÇÃO

Cítricos são reconhecidos pelo seu elevado teor de compostos fenólicos, carotenoides, vitamina C e outros compostos bioativos (Aadil et al., 2013). Uma parte dos cítricos é processada em sucos no intuito de aumentar a vida de prateleira e diversificar o mercado, assim como acontece com a bergamota (*Citrus reticulata*), também conhecida como tangerina, mexerica ou mandarina. A maior parte da bergamota produzida no Brasil é consumida *in natura*, estando os sucos e néctares como os principais produtos processados da fruta, seguido da extração de óleos essenciais (Darros-Barbosa, 2010). No entanto, durante a produção de sucos os compostos benéficos são facilmente degradados e perdidos com as técnicas de conservação convencionais, como o tratamento térmico intenso. A



6º Simpósio de Segurança Alimentar

Desvendando Mitos

15 a 18 de maio de 2018

FAURGS • Gramado • RS

preservação por pasteurização ou esterilização traz importantes vantagens no que diz respeito à conservação do produto, mas já é bem estabelecido que causam detrimento à qualidade sensorial e às propriedades funcionais dos sucos (Bermúdez-Aguirre e Barbosa-Cánovas, 2012; Velásquez-Estrada et al., 2013; Abid et al., 2013; Zinoviadou et al., 2015).

Uma alternativa que vem sendo estudada para conservação de suco de diferentes frutas é o ultrassom (US) (Valero et al., 2007; Bermúdez-Aguirre e Barbosa-Cánovas, 2012; Aadil et al., 2013; Santhirasegaram et al., 2013; Abid et al., 2013; Saeeduddin et al., 2015), considerado uma tecnologia não térmica emergente, as quais tipicamente envolvem menor gasto de recursos naturais. O US é referido como ondas inaudíveis para o ouvido humano, com frequência acima de 20 kHz (Suslick, 1989). Frequências entre 20 kHz e 100 kHz vem sendo avaliadas como meio de alterar as características de um processo ou alimento por seus efeitos atribuídos ao fenômeno de cavitação acústica sobre as propriedades físicas, químicas, bioquímicas e microbiológicas (Puhl e Mason, 2001).

O US foi reconhecido como tecnologia promissora no processamento de sucos para atender à exigência da FDA (*Food and Drug Administration*, EUA) em reduzir o mínimo de 5 log UFC/g de micro-organismos encontrados em sucos de frutas, quando usado associado a outras tecnologias (Tiwari et al., 2009; Aadil et al., 2013). Geralmente o US não possui eficiência quando usado sozinho para conservação de sucos (Zinoviadou et al., 2015), mas apresenta resultados promissores quando usado concomitantemente a temperaturas medianas, geralmente entre 50 °C e 80 °C (Valero et al., 2007; Bermúdez-Aguirre e Barbosa-Cánovas, 2012). Este processo é conhecido como termoultrassonicação, ou simplesmente termossonicação. A sonicação e a termossonicação em sucos de frutas vem sendo avaliadas em diferentes condições acústicas (sistema de aplicação banho ou sonda, frequência, amplitude, intensidade e potência), assim como temperaturas variando na faixa de 25 °C a 90°C e tempos de exposição ao tratamento desde poucos minutos até horas. Além dos benefícios para conservação, o US também vem sendo utilizado como ferramenta para modificação das propriedades ou para extração de compostos de interesse em células vegetais, tais como polifenóis, carotenoides, antioxidantes, ácidos, entre outros, melhorando a qualidade nutricional dos sucos (Santhirasegaram et al., 2013; Bora et al., 2017).

Apesar de já ter sido avaliado o efeito do US sobre suco de diversas frutas e sob diferentes condições, são escassos os dados de como o uso desta tecnologia emergente impacta a qualidade quando usada em suco de bergamota, uma fruta de importância econômica em nosso estado. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do uso da termossonicação com diferentes binômios de temperatura e tempo sobre parâmetros de qualidade físico-químicos e microbiológicos de suco de bergamota.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Produção do suco de bergamota

As frutas foram adquiridas no comércio local de Panambi – RS, higienizadas e descascadas. Os gomos sem as sementes foram triturados em liquidificador industrial e coados usando peneira doméstica. Este suco integral foi então diluído na proporção 1:1 com água, homogeneizado e posteriormente fracionado para os cinco tratamentos.

2.2 Termossonicação

Alíquotas de 250 mL de suco foram sonicadas em um béquer imerso em banho de US (Elma®, 35 kHz, 500 W, com 100% da amplitude, modo normal) utilizando os seguintes binômios temperatura/tempo: 60 °C/ 5 min, 60 °C/ 10 min, 70 °C/ 5 min e 70 °C/ 10 min. Além destes tratamentos, foi adotado um controle não sonificado, submetido à pasteurização em banho-maria (90 °C/ 2 min). Logo após o tratamento, os sucos foram acondicionados em garrafas plásticas previamente



6º Simpósio de Segurança Alimentar

Desvendando Mitos

15 a 18 de maio de 2018

FAURGS • Gramado • RS

higienizadas com álcool 70% e armazenadas sob refrigeração (5 ± 1 °C) por 48 h até análise. Todos os tratamentos foram preparados com três repetições.

2.3 Análises laboratoriais

Para avaliar a qualidade microbiológica, foram realizadas análises de contagem total em placas, bolores e leveduras, coliformes totais e termotolerantes, de acordo com APHA (1992). A coleta de amostra para análise microbiológica foi realizada conforme recomendado por Silva et al. (2010), com diluições seriadas (10^{-1} a 10^{-4}) em água peptonada estéril (0,1%).

Foram determinados pH (leitura direta em potenciômetro digital Digimed®, previamente calibrado), acidez titulável (Instituto Adolfo Lutz, 2008) e sólidos solúveis totais (SST) pela medida de graus Brix em refratômetro portátil. A cor foi avaliada de modo instrumental usando colorímetro Minolta® (modelo CM-700d, Konica Minolta, Osaca, Japão), determinando os parâmetros L^* (luminosidade), a^* (-a=verde, +a=vermelho) e b^* (-b=azul, +b=amarelo). Todas as análises laboratoriais foram realizadas em triplicata para cada uma das três repetições, com exceção da análise instrumental de cor, realizada em sextuplicata.

2.4 Análise estatística

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado. Os dados foram tratados usando o programa STATISTICA 7.0 para obter a ANOVA e as diferenças entre as médias calculadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observado crescimento de micro-organismos na contagem total em placas, bolores e leveduras (<25 UFC/mL na diluição 10^{-1}) e coliformes totais e termotolerantes, independentemente do tratamento. Deste modo, a termossonicação exerceu o mesmo efeito da pasteurização na inativação de micro-organismos, mesmo quando considerados temperatura e tempo mínimos do experimento (60 °C/ 5 min). Zafra-Rojas et al. (2013) também observaram efeito positivo do US sobre a inativação microbiana em suco de pera ao usarem sonda US (20 kHz) por 15 e 25 min. Efeito similar para o suco da mesma fruta foi relatado por Saeeuddin et al. (2015) ao usarem sonda US (20 kHz, 65 °C/ 10 min). No entanto, Santhirasegaram et al. (2013) obtiveram maior inativação microbiana em suco de manga no controle pasteurizado quando comparado com amostras tratadas em banho de US (40 kHz) por tempos de 15, 30 e 60 min sob temperatura ambiente (25 °C). Este trabalho evidencia a necessidade de associar o US a outra tecnologia, como a temperatura. Walking-Ribeiro et al. (2009) usaram US e campo elétrico pulsado em suco de laranja (55 °C/ 10 min), sem obter efeito significativo do US sobre a contagem total. Neste caso, o uso de temperatura inferior a 60 °C pode ter contribuído para a baixa inativação microbiana. O mecanismo da inativação de micro-organismos pelo US é difícil de estabelecer devido a diversos efeitos mecânicos e/ou químicos que ocorrem simultaneamente, mas a hipótese mais aceita é de que a cavitação intracelular causa afinamento da membrana celular do micro-organismo, chegando a romper esta estrutura (Anaya-Esparza et al., 2017). O fenômeno de cavitação acústica se origina quando a onda ultrassônica atravessa um meio líquido (água/suco), provocando alternância de ondas de compressão e rarefação e com isso produzindo bolhas no líquido, as quais podem se estabilizar ou implodir e liberar alto conteúdo de energia (Suslick, 1989). Outras hipóteses são de que de que o US aumenta a taxa de transferência de calor durante a termossonicação e produz radicais livres tóxicos que danificam a célula, contribuindo para letalidade dos micro-organismos (Ashokkumar, 2015).

A termossonicação também não afetou parâmetros de pH e acidez titulável dos sucos ($P > 0,05$), conforme pode ser observado na Tabela 1. Resultados semelhantes foram relatados por



6º Simpósio de Segurança Alimentar

Desvendando Mitos

15 a 18 de maio de 2018
FAURGS • Gramado • RS

Zafra-Rojas et al. (2015), Saeeduddin et al. (2015), Walking-Ribeiro et al. (2009) e Santhirasegaram et al. (2013) no suco de diferentes frutas submetidos a US ou termossonicação.

Tabela 1. Valores de pH, acidez titulável e sólidos solúveis totais de sucos de bergamota submetidos à termossonicação em banho US 35 kHz

	pH	Acidez titulável (g% ácido cítrico)	Sólidos Solúveis Totais (° Brix)
Controle*	3,82 ± 0,02 ^a	0,35 ± 0,01 ^a	5,0 ± 0,01 ^b
60 °C / 5 min	3,82 ± 0,05 ^a	0,35 ± 0,01 ^a	5,0 ± 0,01 ^b
60 °C / 10 min	3,87 ± 0,04 ^a	0,36 ± 0,01 ^a	5,3 ± 0,02 ^{ab}
70 °C / 5 min	3,84 ± 0,02 ^a	0,35 ± 0,01 ^a	6,0 ± 0,01 ^a
70 °C / 10 min	3,83 ± 0,02 ^a	0,36 ± 0,01 ^a	6,0 ± 0,01 ^a

*Não sonicado, submetido à pasteurização (90°C / 2 min).

Médias ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P>0,05).

Embora estes autores também não tenham observado efeito do US sobre SST, percebemos que ao usar temperatura de 70°C os valores de SST foram superiores ao controle e tratamento 60 °C/5 min (P<0,05). Jabbar et al. (2014) relataram aumento na extração de açúcares em suco de cenoura ao usar sonda 20 kHz (15 °C, 2 min), possivelmente provocado pelo rompimento de células pela cavitação, com consequente liberação de açúcares. O aumento da temperatura para 70 °C ou do tempo de exposição (60 °C/10 min) podem ter contribuído para liberação de SST.

A cor do suco é um importante atributo de qualidade para o consumidor. Os resultados na Tabela 2 indicam que a termossonicação diminuiu o parâmetro que avalia a luminosidade (L*), especialmente quando usados maiores tempos de tratamento (P<0,05). Santhirasegaram et al. (2013) relataram que a sonicção aumentou L* em suco de manga, mas Zinoviadou et al. (2015) afirmam que parâmetros de cor são fortemente influenciados pela matriz e condições adotadas no tratamento. Anaya-Esparza et al. (2017) consideraram que longos tempos de exposição à termossonicação, altas temperaturas e amplitude podem favorecer reações de escurecimento enzimáticas e não enzimáticas como Maillard, o que pode ter contribuído para os menores valores de L* observados nos tratamentos por 10 min.

Tabela 2 – Parâmetros instrumentais de cor de sucos de bergamota submetidos à termossonicação em banho US 35 kHz

	L*	a*	b*
Controle*	45,8 ± 1,1 ^a	2,7 ± 0,2 ^b	6,3 ± 0,6 ^b
60 °C / 5 min	44,3 ± 1,1 ^{ab}	3,1 ± 0,4 ^{ab}	7,4 ± 0,9 ^{ab}
60 °C / 10 min	43,7 ± 0,2 ^b	3,3 ± 0,1 ^a	8,3 ± 0,3 ^a
70 °C / 5 min	44,0 ± 0,2 ^{ab}	3,3 ± 0,1 ^a	8,4 ± 0,2 ^a
70 °C / 10 min	43,8 ± 0,2 ^b	3,4 ± 0,1 ^a	8,8 ± 0,3 ^a

*Não sonicado, submetido à pasteurização (90°C / 2 min).

Médias ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P>0,05).

O parâmetro de cor que avalia a tonalidade do verde/vermelho (a*) apresentou maiores valores quando o tratamento usado foi 60 °C/10 min e em ambos os tratamentos a 70 °C (P<0,05). Os pigmentos que proporcionam a cor do suco de bergamota são na maioria carotenoides, associados aos tons vermelho, amarelo e laranja. Estudos relataram que os carotenoides tiveram sua extração aumentada com o uso de US em suco de manga (Santhirasegaram et al., 2013) e de cenoura (Jabbar et



6º Simpósio de Segurança Alimentar

Desvendando Mitos

15 a 18 de maio de 2018

FAURGS • Gramado • RS

al., 2014). Fonteles et al. (2012) também observaram aumento de a^* em alguns tratamentos com suco de melão sonicado. O parâmetro de cor que avalia as tonalidades de azul/amarelo (b^*) também foi aumentado ($P < 0,05$) pela termossonicação, indicando maior presença da tonalidade amarelada quando usado o tratamento. Gómez-López et al. (2010) observaram o mesmo efeito em suco de laranja sonicado (sonda 20 kHz, 500 W, 10 °C).

4. CONCLUSÕES

A termossonicação foi eficiente na eliminação de micro-organismos que poderiam prejudicar a conservação e segurança do suco de bergamota. Ao mesmo tempo, não influenciou em parâmetros de pH e acidez titulável e aumentou a concentração de sólidos solúveis totais. A termossonicação reduziu a luminosidade do suco e aumentou as tonalidades de vermelho e amarelo, contribuindo, deste modo, para melhor percepção de tons associados e importantes para o suco de bergamota, como os tons vermelho e amarelo. De modo geral, o uso de temperatura de 70 °C, assim como tempos de exposição de 10 min apresentaram efeitos mais pronunciados sobre sólidos solúveis totais e parâmetros de cor. Conclui-se que a termossonicação, nas condições adotadas neste estudo, pode ser um meio eficiente de conservar e melhorar a cor do suco de bergamota.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Instituto Federal Farroupilha, ao CNPq e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo apoio financeiro e bolsas de iniciação científica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aadil, R. M., Zeng, X-A, Han, Z. & Sun, D-W. (2013). Effects of ultrasound treatments on quality of grapefruit juice. *Food Chemistry*, 141(3), 3201-3206.
- Anaya-Esparza, L. M., Velázquez-Estrada, R. M., Roig, A. X., García-Galindo, H. S., Sayago-Ayerdi, S. G., & Montalvo-González, E. (2017). Thermosonication: an alternative processing for fruit and vegetable juices. *Trends in Food Science & Technology*, 61(1), 26-37.
- APHA - American Public Health Association (1992). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (3 ed). Washington, D.C., 1219.
- Ashokkumar, M. (2015). Applications of ultrasound in food and bioprocessing. *Ultrasonics Sonochemistry*, 25, 17-23.
- Bermudéz-Aguirre, D., & Barbosa-cánovas, V. G. (2012). Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in pineapple, grape and cranberry juices under pulsed and continuous thermo-sonication treatments. *Journal of Food Engineering*, 108(3), 383-392.
- Bora, S. J., Handique, J., & Sit, N. (2017). Effect of ultrasound and enzymatic pre-treatment on yield and properties of banana juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 37, 445-45.
- Darros-Barbosa, R. (2010). Suco de tangerina. In: Venturini Filho, W.G. (Org.) *Bebidas não alcoólicas*. Série Bebidas, vol 2. São Paulo: Editora Blucher.
- Fonteles, T. V., Costa, M. G. M., Jesus, A. L. T., Miranda, M. R. A., Fernandez, F. A. N., & Rodriguez, S. (2012). Power ultrasound processing of cantaloupe melon juice: Effects on quality parameters. *Food Research International*, 48(1), 41-48.
- Gómez-López, V. M., Orsolani, L., Martínez-Yépez, A., & Tapia, M. S. (2010). Microbiological and sensory quality of sonicated calcium-added orange juice. *LWT – Food Science and Technology*, 43(5), 808-813.
- Instituto Adolfo Lutz (2010). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. (4 ed, 1. ed. digital). Disponível em http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf



6º Simpósio de Segurança Alimentar

Desvendando Mitos

15 a 18 de maio de 2018

FAURGS • Gramado • RS

- Jabbar, S., Abid, M., Hu, B., Wu, T., Hashim, M. M., Lei, S., Zhu, X., & Zeng, X. (2014). Quality of carrot juice as influenced by blanching and sonication treatments. *LWT – Food Science and Technology*, 55(1), 16-21.
- Puhl, S.S. & Mason, T.J. The uses of ultrasound for biological decontamination. (2001). In: Mason, T.J. & Tiehm, A. (Ed). *Advances in Sonochemistry*, Amsterdam: Elsevier Sciences.
- Saeeduddin, M., Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M. M., Awad, F. N., Hu, B., Lei, S., & Zeng, X. (2015). Quality assessment of pear juice under ultrasound and commercial pasteurization processing conditions. *LWT – Food Science and Technology*, 64(1) 452-458.
- Santhirasegaram, V., Razali, Z., & Somasundram, C. (2013). Effects of thermal treatment and sonication on quality attributes of Chokanan mango (*Mangifera indica* L.) juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5), 1276-1282.
- Silva, N., Junqueira, V. C. A., Silveira, N. F. A., Taniwaki, N. H., Santos, F. R. S. & Gomes, R. A. R. (2010). *Manual de métodos e análise microbiológica de alimentos e água* (4 ed). São Paulo: Varela.
- Suslick, K.S. (1989). The chemical effects of ultrasound. *Scientific American*, 80-86.
- Tiwari, B.K., Muthukumarappan, K., O'Donnell, C. P., & Cullen, P. J. (2009). Inactivation kinetics of pectin methylesterase and cloud retention in sonicated orange juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(2), 166-171.
- Valero, M., Recrosio, N., Saura, D., Muñoz, N., Martí, N., & Lizama V. (2007). Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. *Journal of Food Engineering*, 80(2), 509-516.
- Velázquez-Estrada, R.M., Hernández-Herrero, M. M., Rüfer, C. E., Guamis-López, B., & Roig-Sagués, A. X. (2013). Influence of ultra high pressure homogenization processing on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 18, 89-94.
- Walkling-Ribeiro, M., Noci, F., Cronim, D. A., Lyng, J. G., & Morgan, D. J. (2009). Shelf life and sensory evaluation of orange juice after exposure to thermosonication and pulsed electric fields. *Food and Bioproducts Processing*, 87(2), 102-107.
- Zafra-Rojas, Q.Y., Cruz-Cansino, N., Ramírez-Moreno, E., Delgado-Olivares, L., Villaneuva-Sánchez, J. & Alanís-García, E. (2013). Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5), 1283-1288.
- Zinoviadou, K. G., Galanakis, C. M., Brnčić, M., Grimi, N., Boussetta, N., Mota, M. J., Saraiva, J. A., Patras, A., Tiwari, B. & Barba, F. J. (2015). Fruit juice sonication: Implications on food safety and physicochemical and nutritional properties. *Food Research International*, 77(4), 743-752.