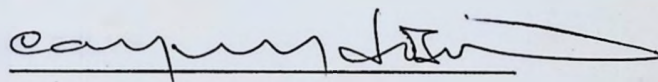


ESTUDO DOS EFEITOS DA TEMPERATURA E SO₂ NA
CONSERVAÇÃO DO SUCO DE LIMÃO INTEGRAL

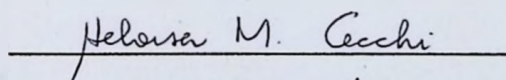
SIDINÉA CORDEIRO DE FREITAS

APROVADO EM 26 DE NOVEMBRO DE 1993

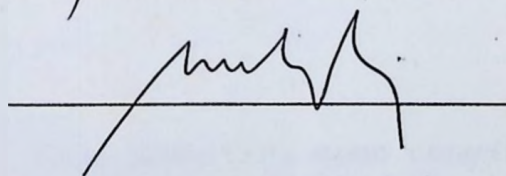
CARLOS ALBERTO BENTO DA SILVA



HELOISA MÁSCIA CECCHI



ARMANDO U. SABAA SRUR



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE TECNOLOGIA

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ESTUDO DOS EFEITOS DA TEMPERATURA E SO₂ NA CONSERVAÇÃO

DE SUCO DE LIMÃO INTEGRAL

SIDINEA CORDEIRO DE FREITAS

SOB A ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR

CARLOS ALBERTO BENTO DA SILVA

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau
de Mestre em Ciência e Tecno-
logia de Alimentos.

Itaguaí, Rio de Janeiro

26 de novembro de 1993

664.804334
F866e
T

AGRADECIMENTOS

Injusto seria aqui relacionar os nomes de todas as pessoas que, de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho. A memória poderia falhar e alguém seria olvidado. Difícil especificar qual a mais importante, todas o foram.

Assim, fica aqui o mais profundo e sincero agradecimento aos funcionários da Divisão de Pesquisas e Desenvolvimento da Coca-Cola Indústrias Ltda., professores do Instituto de Nutrição da UERJ, aos funcionários e professores da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, ao meu orientador, enfim, a todos aqueles que com eficiência, carinho, atenção e principalmente, paciência, possibilitaram a execução deste trabalho, marco importante em minha vida profissional.

ÍNDICE

		Página
Resumo		x
Summary		xiii
1 - Introdução		1
2 - Revisão Bibliográfica		5
2.1 - Suco de limão.....		5
2.1.1 - Constituintes.....		5
2.1.2 - Processamento do fruto.....		17
2.2 - Alterações do suco de limão.....		21
2.2.1 - Alteração microbiológica		24
2.2.2 - Alterações enzimáticas.....		25
2.2.2.1 - Prevenção de alterações enzimáticas.		26
2.2.3 - Escurecimento não enzimático		28
2.2.3.1 - Tipos.....		28
2.2.3.1.1 - Reação de Maillard.....		28
2.2.3.1.2 - Escurecimento via ácido ascórbico...		30
2.2.3.1.3 - Caramelização.....		31
2.2.3.2 - Prevenção do escurecimento não enzimático.....		31
2.3 - Usos de SO ₂		31
2.3.1 - Em geral		36
2.3.2 - Em suco		37
2.3.3 - Prevenção do escurecimento não enzimático.....		39
2.3.4 - Prevenção da atividade enzimática..		40
2.3.5 - Inibição microbiológica pelo SO ₂ ...		42
2.3.6 - Fatores adversos.....		43

2.4 - Análises de SO ₂	43
2.5 - Síntese	47
3 - Materiais e Métodos	49
3.1 - Materiais	49
3.2 - Métodos	49
3.2.1 - Densidade	52
3.2.2 - Sólidos solúveis.....	52
3.2.3 - Açúcares totais	52
3.2.4 - pH.....	53
3.2.5 - Acidez total	53
3.2.6 - Avaliação da cor	53
3.2.7 - Ácido ascórbico	53
3.2.8 - Dióxido de enxofre livre	54
3.2.9 - Dióxido de enxofre total.....	55
3.2.10 - Análise Sensorial	56
4 - Resultados e Discussão	58
4.1 - Análise do suco de limão.....	58
4.1.1 - Densidade	59
4.1.2 - Sólidos solúveis.....	68
4.1.3 - Açúcares totais	77
4.1.4 - pH	89
4.1.5 - Acidez total.....	97
4.1.6 - Avaliação da cor	106
4.1.7 - Ácido ascórbico	107
4.1.8 - Anidrido sulfuroso livre.....	118
4.1.9 - Anidrido sulfuroso total	127
4.1.10 - Análise sensorial	136
5 - Conclusão	141
6 - Bibliografia	144

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

1 - Fluxograma relativo às fases de produção e processamento do suco de limão integral e concentrado...	18
2 - Efeito pH sobre atividade enzimática.....	27
3 - Proporção de SO ₂ molecular, HSO ₃ ⁻ e SO ₃ ²⁻ em solução aquosa, em função do pH do meio	34
4 - Cinética do escurecimento não enzimático	41
5 - Fluxograma de procedimento	51
6 - Densidade do suco estocado à 30°C	63
7 - Densidade do suco estocado à 5°C	67
8 - Sólidos solúveis do suco estocado à 30°C.....	71
9 - Sólidos solúveis do suco estocado à 5°C	76
10 - Açúcares totais do suco estocado à 30°C	82
11 - Açúcares totais do suco estocado à 5°C	88
12 - pH do suco estocado à 30°C	92
13 - pH do suco estocado à 5°C	96
14 - Acidez total do suco estocado à 30°C	100
15 - Acidez total do suco estocado à 5°C	105
16 - Ácido ascórbico do suco estocado à 30°C	111
17 - Ácido ascórbico do suco estocado à 5°C	117
18 - SO ₂ livre do suco estocado à 30°C	122
19 - SO ₂ livre do suco estocado à 5°C	126

	Página
20 - SO ₂ total do suco estocado à 30°C	131
21 - SO ₂ total do suco estocado à 5°C	135

ÍNDICE DE TABELAS

I - Número de compostos voláteis, de cada função orgânica, no óleo de limão	09
II - Vitaminas do fruto fresco e processado	12
III - Constituintes inorgânicos do suco de limão....	14
IV - Composição de limões da variedade Siciliano e Taiti	15
V - Composição do suco de limão comercial	16
VI - Densidade do suco estocado à 30°C	61
VII - Estatística da tabela VI.....	62
VIII - Densidade do suco estocado à 5°C	65
IX - Estatística da tabela VIII	66
X - Sólidos solúveis do suco estocado à 30°C	69
XI - Estatística da tabela X	70
XII - Sólidos solúveis do suco estocado à 5°C	74
XIII - Estatística da tabela XII	75
XIV - Teor de açúcares totais do suco estocado à 30°C	78
XV - Teor de açúcares redutores do suco estocado à 30°C	79

	Página
XVI - Teor de sacarose do suco estocado à 30°C	80
XVII - Estatística da tabela XIV.....	81
XVIII - Teor de açúcares totais do suco estocado à 5°C	84
XIX - Teor de açúcares redutores do suco estocado à 5°C	85
XX - Teor de sacarose do suco estocado à 5°C	86
XXI - Estatística da tabela XVIII	87
XXII - pH do suco estocado à 30°C	90
XXIII - Estatística da tabela XXII.....	91
XXIV - pH do suco estocado à 5°C	94
XXV - Estatística da tabela XXIV	95
XXVI - Acidez total do suco estocado à 30°C	98
XXVII - Estatística da tabela XXVI	99
XXVIII - Acidez total do suco estocado à 5°C	103
XXIX - Estatística da tabela XXVIII	104
XXX - Teor de ácido ascórbico do suco estocado à 30°C	109
XXXI - Estatística da tabela XXX	110
XXXII - Teor de Ácido ascórbico do suco estocado à 5°C	115
XXXIII - Estatística da tabela XXXII	116
XXXIV - Teor de SO ₂ livre do suco estocado à 30°C	120

XXXV - Estatística da tabela XXXIV	121
XXXVI - Teor de SO ₂ livre do suco estocado à 5°C.....	124
XXXVII - Estatística da tabela XXXVI	125
XXXVIII - Teor de SO ₂ Total do suco estocado à 30°C	129
XXXIX - Estatística da tabela XXXVIII~.....	130
XL - Teor de SO ₂ total do suco estocado à 5°C.....	133
XLI - Estatística da tabela XL	134
XLII - Avaliação da amostra com 0 ppm de SO ₂	138
XLIII - Avaliação da amostra com 500 ppm de SO ₂	138
XLIV - Avaliação da amostra com 1000 ppm de SO ₂	139
XLV - Avaliação da amostra com 1500 ppm de SO ₂	139
XLVI - Avaliação final	140

R E S U M O

O objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento do suco de limão integral e não processado, estocado à 5°C e 30°C, com diferentes concentrações de SO₂, quanto as modificações nas suas características físico - químicas, oriundas ou não de escurecimento enzimático e não enzimático, que prejudicariam sua qualidade, para possível elaboração de refrigerantes.

O suco foi tratado com metabissulfito de sódio, como agente sulfitante, em concentrações de 0, 500, 1000 e 1500 ppm de SO₂ total, sendo as amostras estocadas à 30°C, 5°C e -20°C (controle).

As análises para avaliação das mudanças físico - químicas na amostra conservada à 30°C, foram realizadas em período de 33 dias, enquanto que o suco conservado à 5°C foi avaliado por 90 dias.

Os parâmetros considerados na avaliação da qualidade do suco foram : SO₂ total e livre, ácido ascórbico, PH, sólidos solú-

veis, acidez total, açúcares redutores e não redutores, densidade, cor e sensorial.

As amostras conservadas à 30°C, adicionadas de agente sulfitante, apresentaram poucas mudanças em suas características físico-químicas, exceto pela grande perda do teor de ácido ascórbico. Não foi detectado, instrumentalmente, início de escurecimento. A amostra sem adição de agente sulfitante, não suportou esta temperatura de estocagem e apresentou contaminação microbiológica e início de escurecimento, após quatro dias.

As amostras conservadas à 5°C e adicionadas de agente sulfitante apresentaram poucas mudanças em suas características físico-químicas, havendo também, grande perda de ácido ascórbico, não sendo detectado início de escurecimento. A amostra sem adição de agente sulfitante suportou esta condição de estocagem com poucas mudanças em suas características físico - químicas, ocorrendo também grande perda de ácido ascórbico, sendo observado início de escurecimento.

O suco foi testado sensorialmente em um refrigerante de limão, sendo usadas as amostras conservadas à 30°C, 5°C e -20°C (padrão), em diferentes tempos de armazenamento.

As amostras contendo suco de limão com SO₂ indicaram significativa diferença em relação ao padrão, pois o sulfito já é per-

cebido na mais baixa concentração (500 ppm). Entretanto, as amostras conservadas com SO_2 , não apresentaram nota oxidada, o que foi observada no padrão.

Em vista dos resultados obtidos, pode-se afirmar que o suco de limão integral, quando adicionado de 500 ppm de SO_2 , manterá suas características, desde que seja estocado à 30°C por 33 dias ou 90 dias, quando estocado à 5°C .

S U M M A R Y

This study dealt with the behaviour of single-strength lemon juice stored at 30 and 5°C, added of different concentrations of sulphur dioxide, related with the changes in their physical-chemical characteristics, due to enzymatic or nonenzymatic browning, for use in lemon soft drinks.

The juice was added of sodium metabisulfite at 0, 500, 1000 e 1500 ppm total sulphur dioxide, then stored at 30°C, 5°C and -20°C (control).

Analyses for evaluation of physical - chemical changes in the products stored at 30°C were carried out up to 33 days, while those stored at 5°C were analysed for 90 days.

The following analyses were performed: total and free sulphur dioxide, ascorbic acid, total and reducing sugars, soluble solids, pH, colour and sensory analysis.

The samples stored at 30°C and added of sulphur dioxide,

evidenced no changes in all parameter, except for ascorbic acid loss. No browning was observed by instrumental measurements.

Samples without addition sulfiting agent did not support storage temperature and evidenced microbiological contamination and beginning of browning after four days.

The products stored at 5°C added of sulphur dioxide showed little changes in physical-chemical characteristics, in spite of ascorbic acid losses. Beginning of the browning was not evidenced at this condition. Samples without sulfiting agent stood this storage conditions with little changes in their physical-chemical characteristics and loss of ascorbic acid. However, beginning of browning was observed.

Sensory evaluation was carried out in soft-drink prepared with the samples stored at 30°C, 5°C and -20°C (control) at different storage times.

Samples added of sulphur dioxide evidenced significant difference in relation to the standard. Sulphite was already perceived, even at lowest concentration of sulphur dioxide (500 ppm).

Samples prepared with lemon juice added of sulphur dioxide did not evidence oxidized notes, which were perceived in the control sample.

From the results obtained it is possible to affirm that

the single-strength lemon juice added with 500 ppm of sulphur dioxide will be able to keep its characteristics as long as stored at 30°C for 33 days or 90 days when stored at 5°C.

1 - I N T R O D U Ç Ã O

O limão (Citrus limon) que é originário de um híbrido entre o citron (Citrus medica) e a lima (Citrus aurantifolia), é classificado como fruto não climatérico, isto é, caracteriza-se por poucas mudanças em seus constituintes e consequente diminuição da taxa de respiração durante o amadurecimento. (Friend et al., 1981)

Entre as frutas cítricas, o limão (Citrus limon) é indubitavelmente o mais onipresente em suas áreas de aplicação e bastante apropriadamente, chamado de "fruto de muitos usos". Embora não comestível como os outros frutos cítricos, o limão e seu suco provavelmente tem tido uma maior variedade de seu uso na culinária, na indústria e na medicina do que outros frutos. A importância do limão na dieta foi estabelecida no meio do século XVIII pelos clássicos experimentos de James Lind, um cirurgião da marinha britânica, em seus trabalhos com o escorbuto, uma terrível e frequente doença fatal de marinheiros que, em geral, se acreditava ser causada

por infecções.

Em 1753, James Lind publicou o Tratado do Escorbuto, com dados clínicos que provavam que a doença era devida à carência de um elemento alimentar essencial, hoje conhecido como deficiência de vitamina C. Após esta publicação e como precaução contra essa temida doença de marinheiros, as embarcações britânicas eram obrigadas a transportar suco de limão ou lima, suficiente para fornecer a cada membro da tripulação, uma porção diária do fator anti-escorbuto. Mesmo hoje, marinheiros britânicos são frequentemente chamados de "limeys", por causa dessa associação.

Mais tarde, na Califórnia, durante a corrida do ouro em 1849, ocorreu o estabelecimento da indústria comercial do limão, proporcionada pelo afluxo de mineiros na região que, devido ao excesso de trabalho nos campos tinham como consequência o surgimento da carência de vitamina C e o inevitável escorbuto.

Hoje, há plantações de limão na Califórnia, Arizona e Flórida. Outros países também produzem limão, como a Itália (um dos maiores produtores do mundo), Argentina, Espanha, Turquia, etc... (Horton et al., 1980).

Dados do IBGE mostram que, em 1991, o Brasil produziu 6.229.390 frutos, dos quais, 5.335.506 foram produzidos na Região Sudeste. São Paulo é o estado maior produtor com 4.711.666 frutos.

O limão tem sua origem nas regiões orientais do Himalaia, na Índia e áreas adjacentes. Foi trazido para o Novo Mundo com a segunda viagem de Colombo.

Quanto ao limão siciliano (Citrus limon Burn), pouco se sabe sobre sua origem, embora seja considerado por alguns pesquisadores como uma variedade brasileira. Outros; segundo Kefford et al. (1970), o consideram ser um híbrido entre a lima e o limão de baixa acidez, divulgando serem Benk e Bergman (1963) seus descobridores, que o denominaram "dolce Romano".

O limão siciliano possui uma polpa de cor amarelo claro e com textura firme, apresentando relativamente pouco caldo, 35% do peso do fruto, com teores médios de brix - 8%, acidez - 5,3% e "ratio" em torno de 1,5.

O fruto é geralmente destinado para consumo ao natural nos mercados interno e externo, ou para suco concentrado. (Rodriguez et al., 1980).

O suco de limão é distintamente diferente em composição dos outros frutos cítricos, com exceção da lima. Por causa de sua alta acidez, pouca quantidade é usada para se obter o efeito desejado. Ao contrário do que ocorre com outros cítricos, pode ser utilizado em variadas aplicações. Isto justifica o desejo geral dos consumidores de mantê-lo a mão a todo tempo para várias aplicações,

como flavorizante e/ou acidulante familiar saudável. Com exceção do açúcar e do sal, o suco de limão provavelmente tem sido usado mais extensivamente para realçar e desenvolver o inerente "flavor", do que qualquer outro item alimentar.

Uma vez que o suco de limão contém constituintes importantes, seus efeitos sobre o "flavor" e sua estabilidade, quando submetidos a processamento e estocagem, devem ser estudados e, portanto, a escolha do método de processamento, estocagem e conservação são importantes, pois, embora possuindo pH baixo, sua atividade de água é alta, o que poderá propiciar o crescimento de algumas bactérias ácido-resistentes, mofos e leveduras, escurecimento não enzimático e a ação de enzima, principalmente pectinesterase. Portanto, para preservação de sua qualidade, torna-se necessária a utilização de um agente sulfitante, sendo utilizado o metabissulfito de sódio, citado na literatura como eficaz, na proteção microbiológica e como agente antioxidante.

Este trabalho visa estudar o efeito conservador do SO_2 em suco de limão integral, para futura utilização em produtos, tais como refrigerantes e refrescos.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - SUCO DE LIMÃO

Alguns frutos cítricos podem ser ingeridos frescos, com excessão do limão, ou utilizados como matéria prima na produção de suco integral ou concentrado, doces, geléias, etc. A polpa e o melado são usados como alimento para o gado, e a pectina e os óleos essenciais são extraídos da casca. O ácido cítrico é produzido a partir de limão e lima. (Salunkhe et al., 1984)

Sucos de frutas cítricas, são considerados fontes primárias de nosso requerimento diário de vitaminas e também um suplemento nutricional adicional de amino ácidos, sais minerais, carboidratos e provavelmente outros fatores presentes ainda sem identificação na porção comestível do fruto.

2.1.1 - Constituintes.

No fruto fresco muitos dos constituintes químicos e sis-

temas enzimáticos estão localizados em diferentes células e tecidos, onde executam suas funções fisiológicas, sem interferir ou reagir entre si. Todavia, quando o suco é extraído do fruto por trituração, prensagem, etc., estes constituintes são misturados e podem reagir, trazendo mudanças indesejáveis no flavor, cor e aroma. (USDA, 1962)

A fim de se tentar inibir ou retardar estas mudanças indesejáveis faz-se necessário o conhecimento de seus constituintes:

- Nitrogenados :

Correspondem a 0,1 a 0,2 % em peso no total do fruto cítrico e no seu suco 5 a 10 % do total de sólidos, e são: proteínas, peptídeos simples, amino ácidos, betaínas, fosfatídeos e substâncias relacionadas.

Segundo Berlitz et al. (1982), os amino ácidos livres em mg/100ml são:

Ácido Aspártico : 19-60

Ácido Glutâmico : 6-35

Serina : 12-28

Alanina : 1-31

Ácido Aminobutírico : 4-20

Arginina : 25-106

Aminas presentes : tiramina, sinefrina e octopamina

- Enzimas :

As encontradas no limão, são: pectinesterase, acetilesterase, fosfatase, proteínases e peroxidases. A perda de turvação do suco é devida a pectinesterase.

Em sucos com baixo pH, que são submetidos a baixa temperatura, a atividade da enzima é completamente inibida.

Em sucos frescos, de baixo pH, é observada durante estocagem a formação de coágulos, causada pela enzima renina.

- Ácidos orgânicos :

São denominados de frutos ácidos, pois seus sólidos solúveis são compostos essencialmente de ácidos orgânicos e açúcares. A acidez do suco cítrico é devida principalmente ao seu teor de ácido cítrico e málico. Traços de ácidos tartárico, benzóico, succínico, oxálico e fórmico são encontrados.

O ácido cítrico é o mais abundante, podendo ocorrer numa faixa de 60 a 70 % do total de sólidos.

Alguns ácidos orgânicos também estão presentes na forma de sais, tais como: citratos, tartaratos, malatos e lactatos; ou na forma de ésteres. (USDA, 1962)

Os ácidos orgânicos em sucos cítricos são um fator de qualidade, pois eles comunicam um sabor refrescante e ácido ao produto, quando combinado com açúcares. (Ting, 1983)

- Compostos Fenólicos

1- Flavonóides : ocorrem combinados com moléculas de carboidratos como glicosídeos. Correspondem a 10% do peso seco do fruto cítrico e são: isosacuranetina, naringenina, hesperidina, eriodictiol, limocitrin, isolimocitrin, dosmin, isohamnecitin, etc...

(USDA, 1962; Berlitz et al., 1982)

2- Ácidos hidroxicinâmicos, hidroxycumarinas e hidroxibenzóicos: raramente estão na forma livre, somente como derivados, e são: ferúlico, p-cumárico, caféico, sináptico, salicílico e gentísico.

- Compostos aromáticos :

A mais importante característica dos frutos cítricos é seu aroma peculiar. Os compostos voláteis são produzidos por via de suas glândulas localizadas na camada fina do flavedo da casca. O óleo essencial de limão é uma mistura complexa, onde já foram identificados 75 compostos. Na tabela I estão listados o número de constituintes encontrados em cada função orgânica.

Nos frutos cítricos os compostos mais abundantes são os terpenos. Os álcoois e os ésteres possuem composição variada, podendo ser citados o α -terpenol, 4-terpenol e o nerol.

O que caracteriza o aroma do óleo essencial do limão é a presença da mistura de isômeros geranial (75%) e neral (25%) denomi-

Tabela I - Número de compostos voláteis de cada função orgânica, no óleo de limão.

Função	Número de Compostos
Ácido	4
Álcool	18
Aldeído	16
Ester	11
Hidrocarboneto	22
Cetona	3
Mistura	1
Total	75

Fonte : Ting, 1983.

nada de citral, que é o aldeído mais importante, seguido do nonal.

- Pigmentos :

A cor do limão é devida a dois grupos de pigmentos, a clorofila e os carotenóides.

A variedade Siciliano possui 16-37% de carotenos, do total de carotenóides da casca.

- Lipídios :

Apesar da quantidade de lipídios no suco ser negligenciável, estes são importantes devido ao seu potencial de produção de "off-flavor", através de sua oxidação, que afetará principalmente a qualidade do suco estocado. (Ting, 1983)

- Carboidratos :

A doçura dos frutos cítricos é devida a presença de glicose, frutose e sacarose. Sendo o limão uma fruta com menor doçura e possuindo alta acidez, predominam os açúcares redutores.

Frutos cítricos não possuem amido, e por este motivo não podem ser colhidos verdes, para posterior amadurecimento. Carboidratos complexos incluem a celulose, a hemicelulose e a pectina.

As substâncias pécticas, não fazem parte integrante do suco limão, porém são carregadas no processo de extração do suco. As

substâncias pécticas encontradas são: protopectina, ácidos pectínicos, pectina e ácidos pécticos.

- Vitaminas :

Os cítricos são reconhecidamente fonte de vitamina C. A sua concentração no suco depende de fatores tais como: solo, localização geográfica, clima, maturidade, e outros fatores relacionados.

A sua estabilidade em sucos processados depende primordialmente do tempo e temperatura de estocagem.

O teor de outras vitaminas no suco é baixo, como inositol, niacina, tiamina e riblofavina, porém significativa. (Hendrix et al., 1990)

As vitaminas encontradas no fruto fresco e processado estão listados na tabela II:

Tabela II - Vitaminas do fruto fresco e processado.

	Fresco	Processado
Pro vit A(β -caroteno) (UI/100ml)	0 - 2	0 - 2
B ₁ (tiamina)(μ g/100ml)	30 - 90	40
B ₂ (riboflavina)(μ g/100ml)	60	5 - 50
Bios I (inositol)(mg)	85	-
Vitamina C (mg/100g)	45 - 60	30 - 58
P-P (niacina)(μ g/100ml)	100 - 130	80 - 100

Fonte: Ting, 1983 e Hendrix et al., 1990.

- Constituintes inorgânicos :

O teor de constituintes minerais são determinados pelo seu teor de cinzas, que no suco limão possui uma faixa entre 240 - 250 mg/100 ml.

O potássio é o elemento mais abundante no suco cítrico e é considerado portanto, uma boa fonte na nutrição. Este alto valor relaciona-se a alta acidez do fruto.

O potássio, cálcio e magnésio ocorrem nos frutos em combinação com os ácidos orgânicos, tais como : cítrico, málico e oxálico. O cálcio também pode estar associado a substâncias pécticas.

Os ânions que combinam com os cátions mais comuns encontrados nos sucos de limão, são : fosfatos, sulfatos, cloretos e nitratos. (Ting, 1971)

A composição mineral do suco de limão é mostrada na tabela III.

A tabela IV apresenta composições de sucos de limão das variedades Siciliano e Tahiti e a tabela V de sucos comerciais encontrados em literatura.

Tabela III - Constituintes inorgânicos do suco de limão.

Elemento	Fruto Integral	Suco
Potássio	129 - 306	94 - 193
Sódio	-	1 - 2,9
Cálcio	-	3,1 - 7,4
Ferro	-	0,2 - 1,0
Cloro	-	2,6
Magnésio	-	1 - 6,6
Fósforo	9,2 - 33	3,2 - 14,4
Enxofre	-	2,0
Nitrogênio	97 - 305	-

Fonte: Ting, 1983 e Hendrix et al., 1990.

Tabela IV - Composição de limões das variedades Siciliano e Taiti (Bleinroth et al., 1976):

	Siciliano	Taiti
pH	2,40	2,30
Sólidos Totais (g%)	9,37	8,87
°Brix	10,5	10,3
Ac. Total (g% ác.cítrico)	6,71	6,60
Açúcares Redutores (g%)	1,66	1,55
Açúcares Totais (g%)	2,21	2,31
Ácido Ascórbico (mg/100g)	48	36

Tabela V - Composição de suco de limão comercial (mg/100g).

Constituinte	Suco processado	Parte Comestível
Vitamina C	42	53
Tiamina	0,03	0,04
Riboflavina	0,01	0,01
Niacina	0,1	0,1
Vitamina A	20 (UI)	20 (UI)
Total de carotenóides	0,04	0,06
Bioflavonóides	31	-
Biotina	0,00025	0,00058
Inositol	66	109
Energia	23 (calorias)	27 (calorias)
Carboidratos	7600	8200
Total de fibra dietética	600	2100
Fibra dietética solúvel	-	1000
Fibra dietética insolúvel	-	1100
Cinzas	300	300
Cálcio	7	26
Fósforo	10	16
Ferro	0,2	0,6
Sódio	1	2
Potássio	141	138
Proteína	400	1100
Gordura	100	200

Fonte: Carter, 1993.

2.1.2 - Processamento do fruto.

A maior parte da produção de limão é ainda para consumo "in natura" e o restante é utilizado na produção de suco concentrado congelado e outras aplicações, tais como : suco integral, envasado assepticamente e suco integral pasteurizado e resfriado.

Em razão da manutenção de sua alta qualidade e sua popularidade como base para bebidas, condimento e uso medicinal, o limão foi um dos primeiros frutos a ser processado comercialmente como suco. (Carter, 1993)

As variedades mais importantes no Brasil são a Eureka e Siciliano, sendo as duas utilizadas na indústria para óleo essencial e suco.

- Extração.

O processo consiste no esmagamento do fruto entre dois materiais pesados. Há uma variedade de modelos de extratores que são escolhidos com a finalidade de se conseguir uma maior eficiência de extração do suco da fruta, cujos modelos são definidos pelo tamanho do fruto.

A figura 1 mostra o fluxograma de produção e processamento do suco de limão.

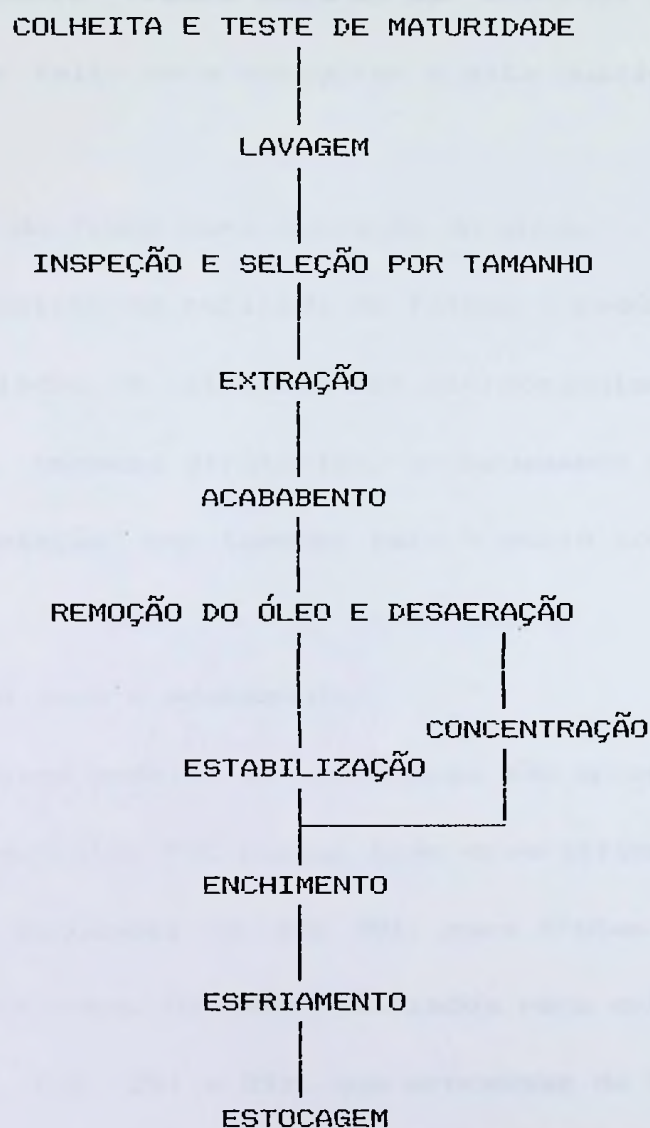


Figura 1 - Fluxograma relativo às fases de produção e processamento do suco de limão integral e concentrado.

- Colheita e teste de maturidade.

Somente frutos maduros são colhidos e o teste de maturidade deve ser feito para assegurar a alta qualidade do suco produzido.

- Preparação do fruto para extração do suco.

Consiste na retirada de folhas e pedúnculos, seleção dos frutos injuriados e atacados por microorganismos, lavagem com detergente em escovas giratórias, enxaguamento e remoção do excesso de água e seleção por tamanho para o envio aos extratores. (Ting, 1983)

- Extração do suco e acabamento.

Vários modelos de extratores são encontrados no mercado.

O extrator FMC possui três diversificações : o CJE 291, para frutos pequenos; o CJE 391, para frutos médios e o CJE 491, para frutos grandes. Os mais utilizados para extração de suco de limão são o CJE 291 e 391, que processam de 325 a 375 limões por minuto ou cerca de 2,5 a 3,0 toneladas métricas por hora. (Carter, 1993)

O CJE extrai simultaneamente o suco e o óleo da casca.

No sistema de extração internacional Brown, o modelo mais utilizado na extração de suco de limão é o 1101, que possui capacidade acima de 10,9 toneladas métricas de limão por hora.

O sistema italiano difere dos demais apenas pelo tratamento que preliminarmente promove no fruto. No processamento, denominado "pelatrice", os frutos são escarificados e posteriormente o suco é extraído do fruto por qualquer equipamento existente no mercado, entre eles o FMC. No sistema "sfumatrice ou torchio", há extração do suco, separação do suco e polpa das cascas, extraíndo-se destas últimas o óleo. Utiliza-se os extratores já anteriormente mencionados.

O acabamento consiste na retirada de sementes remanescentes, resíduos de casca e polpa por intermédio de centrifugação (hidroclone).

- Concentração.

São utilizados para concentração do suco de limão, evaporadores de temperatura média e alto vácuo fabricados pela Companhia APV. Se o suco possuir um nível alto de polpa, haverá dificuldade de penetração de calor e o tratamento HTST, é o utilizado, sendo o evaporador TASTE, o indicado.

Outro tipo de evaporador, o Schmidt, de fabricação alemã, é bastante utilizado nos EUA e Espanha.

A concentração de suco de limão por osmose reversa já foi experimentada, porém seu uso é ainda questionado, devido ao alto requerimento de energia, comparado ao do suco de laranja.

2.2 - Alterações do suco de limão.

Para se manter a qualidade de um produto processado torna-se necessário o uso de técnicas de controle, a fim de minimizar ou evitar as reações que ocorrerão entre os constituintes do suco e os fatores externos tais como : oxigênio, temperatura e tempo.

A qualidade de sucos cítricos, como o do limão, está relacionada diretamente a sua composição química. Embora o fruto contenha centenas de constituintes químicos, somente poucos destes, quando sofrem alterações podem provocar grande impacto na aceitação do produto final. Os compostos que estão sujeitos a modificações e causam maior impacto no consumo e aceitação são os açúcares e ácidos, os quais afetam o balanço entre a doçura e acidez; os flavonóides e as vitaminas, responsáveis por algumas modificações indesejáveis no suco como, perda nutricional, escurecimento, aparecimento de "off-flavor", etc.

Mesmo, quando o suco é produzido com bom controle microbiológico, e livre de atividade enzimática, poderá sofrer mudanças químicas durante estocagem, que podem influenciar sua vida de prateleira. Estas, resultam em mudanças no "flavor" devido a produção de furfural, hidroximetilfurfural, α -terpinol, diacetil, 3-metil-2-butenol-1 e outros compostos. (Hendrix et al., 1990)

Estas reações que ocorrem em produtos processados também

formam pigmentos escuros, chamados de escurecimento não enzimático ou Reação de Maillard, caramelização ou formação de melanoidinas, cujos substratos são compostos carbonila, principalmente açúcares redutores, como também outros compostos com função carbonila, como por exemplo vitaminas C e K, ortofenóis, aromas naturais, tais como o anidrido cinâmico e vanilina, e produtos de oxidação de alguns lipídios. (Cheftel et al., 1989)

Segundo Marshal (1986), variações no processamento, teor de oxigênio e condições de estocagem podem modificar o flavor, a qualidade e a aparência de sucos cítricos.

A turbidez do suco de limão processado é parcialmente devida ao insípido flavonóide hesperidina (Hendrickson et al., 1964). Outros autores como Scott et al. (1965) e Klavons et al. (1985) justificam a ocorrência da turbidez pela dispersão da pectina, proteína, lipídios, celulose e hemicelulose.

Com respeito ao escurecimento não enzimático, Adams (1982) e Lee et al. (1988), afirmam que ele é o maior causador da perda da qualidade e cor dos produtos cítricos e que a perda do ácido ascórbico não é somente importante pela queda do valor nutricional, estando sua degradação relacionada a mudanças no flavor e na cor.

A via aeróbica e anaeróbica para degradação do ácido ascórbico ocorre em sucos cítricos enlatados, engarrafados ou em ou-

tros tipos de embalagens (Marshall et al., 1986). Isto pode resultar na formação de furfural e outros produtos. Subsequentemente, pigmentos de melanoidinas podem resultar da reação do furfural com amino ácidos ou polimerização do furfural. (Graumlich et al., 1986)

Rodriguez et al. (1991), em experiências com bebida alcoólica preparada a partir de suco de laranja, observou que a remoção da polpa de 10% para 1%, antes da fabricação da bebida, proporcionou uma melhora nas características de escoamento do suco livre de polpa, facilitando isolamento de flavors voláteis. Vantagem adicional foi observada por Radford et al. (1974), com respeito a diminuição na tendência de formação de pigmentos escuros após a centrifugação do suco de fruta. Radford et al. também sugeriu que os hidrocarbonetos estavam relacionados quase exclusivamente com a polpa, enquanto os compostos oxigenados, que contribuem de modo importante para o aroma, estavam principalmente no soro.

Marcy et al. (1989), em experimentos com suco concentrado de laranja e uma bebida preparada com 10% de suco de laranja, embaladas assepticamente, observou que a cor da bebida preparada com 10% de suco e conservada à temperaturas de 4°C, 15°C e 22°C, por 6 meses, permanecia relativamente constante por todo teste, porém a bebida conservada à 30°C, tornou-se mais escura depois de 4 meses (diferença detectada instrumentalmente) e após 6 meses a diferença

já era detectada visualmente. Em relação ao ácido ascórbico, o mesmo pesquisador observou um significativo declínio de sua concentração na bebida com 10% de suco e suco concentrado estocados à 15, 22 e 30°C, porém em produtos estocados à 4°C a perda não foi significativa. Decorridos seis meses a perda de ácido ascórbico foi de 40% para produtos com 10% de suco estocados à 4°C e 15°C, 75% à 22°C e 30°C. Para o suco concentrado a perda foi de 13% à 4°C, 20-21% à 15°C, 40% à 22°C e 72% à 30°C. Quanto à avaliação sensorial, o suco concentrado não apresentou diferença significativa da amostra controle, porém amostras estocadas à 15 e 22°C eram significantemente diferentes após dois meses de estocagem. As bebidas com 10% de suco estocadas à 4 e 15°C, não mostraram diferenças significantes da amostra controle, porém quando a temperatura de estocagem foi de 22°C, a bebida tornou-se significantemente diferente em quatro meses e a 30°C em 3 meses.

2.2.1 - Alteração microbiológica.

O suco de limão está sujeito ao ataque de microorganismos, provenientes da flora inicial, que ainda poderá existir, ou de contaminação durante o processo de extração.

Possuindo baixo pH, está livre de contaminação por microorganismos patogênicos, porém ainda poderão nele crescer bactérias

ácido tolerantes, mofos e leveduras, desde que não sejam utilizados o processamento de pasteurização ou a adição de conservantes químicos.

2.2.2 - Alterações enzimáticas.

Denomina-se escurecimento enzimático a transformação enzimática em suas primeiras etapas de compostos fenólicos em polímeros coloridos, frequentemente pardos ou negros.

O escurecimento enzimático se observa nos vegetais ricos em compostos fenólicos. Este tipo de escurecimento, ocasiona grandes problemas de coloração em algumas frutas e legumes, em particular quando são alterados os tecidos destes vegetais ou são danificados nos processos de : descascamento, corte, trituração para preparação do suco, congelação e desidratação.

Segundo Fenema (1985), o escurecimento enzimático não é viável em produtos de baixo pH (2,5), como o do suco de limão, como mostrado na figura 2, porém degradações relacionadas a enzimas são descritas na literatura em frutos cítricos.

Segundo Hendrix et al. (1990) e Kimball (1991), enzimas pectolíticas naturais ocorrem em frutos cítricos e são extraídas com o suco. Estas enzimas, denominadas pectinesterases, são responsáveis pela gelatinização e perda da turbidez em sucos comerciais.

Se a pectinesterase não é desativada imediatamente após a extração, ocorrerá de-esterificação da pectina durante a estocagem. A enzima promove a demetilação mesmo em temperaturas baixas (-18°C). A demetilação produz substâncias pécticas e consequente formação de gel, que poderá reagir com cálcio e magnésio presentes no suco para formar precipitados semelhantes a flóculos insolúveis.

As enzimas pécticas podem ser desativadas por tratamento pelo calor, denominado estabilização ou pasteurização.

2.2.2.1 - Prevenção de alterações enzimáticas.

Pouco são os métodos que podem ser empregados para a inibição enzimática em alimentos, devido a problemas de toxidez, desenvolvimento de aromas estranhos, ou mesmo econômicos.

Os principais métodos empregados são : a inativação pelo calor, que possui como inconveniente a modificação dos caracteres organolépticos do produto; a adição de compostos redutores que transformam as quinonas em fenóis (neste caso, usa-se o ácido ascórbico); diminuição do PH e eliminação do oxigênio do meio e adição de agentes sulfitantes.

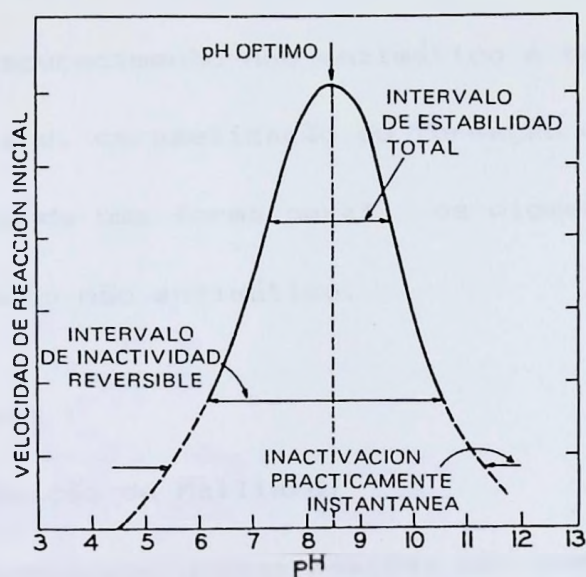


Figura 2 - Efeito do pH sobre a atividade enzimática.

Fonte: Fenema, 1985.

2.2.3 - Escurecimento não enzimático.

Corresponde a um conjunto de reações muito complexas, com formação de pigmentos pardos e modificações, favoráveis ou não, no odor e sabor dos produtos.

O escurecimento não enzimático é também denominado de Reação de Maillard, caramelização ou formação de melanoidinas. Esta última designa de uma forma geral, os pigmentos pardos das reações de escurecimento não enzimático.

2.2.3.1 - Tipos :

2.2.3.1.1 - Reação de Maillard.

O substrato dessas reações são compostos carbonila, principalmente açúcares redutores (polihidroxicarbonila). Também intervem outros compostos com funções carbonila, como por exemplo algumas vitaminas (principalmente ácido ascórbico e vitamina K), orto-fenóis, aromas naturais e produtos de oxidação de lipídios, etc...

Os amino ácidos e as proteínas participam e catalizam estas reações por intermédio de grupos amino livres (especialmente o grupo ϵ -amino de restos de lisina) provocando uma queda na disponibilidade nutricional (perda das vitaminas C e K), assim como perda na solubilidade e digestibilidade das proteínas. (Cheftel et al., 1989)

As principais características da reação de Maillard, segundo Hawthorn (1983), são :

- 1 - É uma reação geral que ocorre entre açúcares redutores e as substâncias que contem grupos aminos livres, tais como os aminoácidos livres e as proteínas.
- 2 - Durante o transcorrer da reação forma-se CO_2 e H_2O .
- 3 - Os produtos finais de reação de cor parda, são misturas de substâncias polimerizadas de composição incerta.
- 4 - A reação ocorre profusamente nos alimentos. Em alguns casos esta reação é desejável (ex. pão), e em outras, indesejável (ex. leite em pó).
- 5 - A reação só poderá ser evitada completamente eliminando-se um dos reagentes.
- 6 - A velocidade da reação pode ser reduzida :
 - a - otimizando-se a atividade de água (a_w), a velocidade de reação alcança o ponto mínimo em atividades de água muito baixas ou muito altas, alcançando velocidade máxima em alguns valores intermediários.
 - b - diminuindo-se a temperatura de conservação.
 - c - mediante a utilização de inibidores químicos.
 - d - diminuindo-se o pH do sistema.
- 7 - Além de pigmentos pardos há formação de certos tipos de odores

e sabores.

8 - Os estágios iniciais da reação não requerem a presença de oxigênio (em contraposição ao escurecimento via ácido ascórbico), ainda que nos estágios finais da polimerização das melanoidinas formadas, estas se veem afetadas pela disponibilidade de oxigênio.

9 - Os pigmentos formados variam desde muito solúveis em água a virtualmente insolúveis. O termo melanoidina se aplica ao material insolúvel e não aos pigmentos solúveis, produzidos nos primeiros estágios da reação.

2.2.3.1.2 - Escurecimento via ácido ascórbico.

Os sucos cítricos sofrem uma reação que difere em pontos essenciais da reação de Maillard. O suco de limão (pH 2,5) e o de laranja (pH 3,4) estão protegidos da reação de Maillard por sua acidez. Além disso, o escurecimento pode ser inibido pela eliminação do oxigênio, posto que o oxigênio não é necessário para a iniciação da reação de Maillard. (Hawthorn, 1983)

A degradação do ácido ascórbico pode ocorrer por duas vias : aeróbica e anaeróbica.

Os produtos resultantes da degradação do ácido ascórbico: furfural, hidroximetilfurfural, citrol, diacetil e, com menor cer-

teza ácido α -cetogulônico, formam melanoidinas com amino ácidos, polimerizando-se, como no caso do furfural. (Rodriguez et al., 1991)

2.2.3.1.3 - Caramelização.

Quando açúcares são aquecidos acima de seu ponto de fusão, formam-se pigmentos pardos, chamados caramelos. Sua composição química é complexa e varia de acordo com as condições de aquecimento empregadas. A reação ocorre tanto em meio ácido, quanto em meio alcalino.

Fagerson (1969) relacionou 96 compostos que foram encontrados ao se aquecer a glicose : lactonas, aldeídos, cetonas, ácidos, furanos e compostos da série aromática.

2.2.3.2 - Prevenção do escurecimento não enzimático.

A prevenção e ou diminuição de reações não enzimáticas são conseguidas por : eliminação de substratos, diminuição do pH do meio, vigilância da temperatura e umidade e adição de agentes inibidores.

2.3 - Usos de SO₂.

Com o propósito de prevenir o escurecimento enzimático e não enzimático, responsáveis pela perda da qualidade e cor nos sucos, bem como evitar a perda de ácido ascórbico devido a degradação

aeróbica e anaeróbica, promover a proteção microbiológica, ação antioxidante, branqueamento, condicionamento e estabilidade de massas, os agentes sulfitantes são os mais indicados.

Agentes sulfitantes tem sido usados como agentes conservantes e para outros propósitos durante séculos. Esse uso remonta à antiguidade quando nos Impérios Romano e Egípcio eram utilizados na limpeza e desinfecção de recipientes onde seriam armazenados os vinhos. (Taylor et al., 1986)

Esta prática permanece até hoje e tecnologistas de alimentos desenvolveram várias aplicações adicionais para esses compostos. (Walker, 1985)

"Sulfitos" ou "Agentes sulfitantes" são termos geralmente aplicados a uma variedade de compostos que tem por base o enxofre. Sua característica comum está relacionada à geração de SO_2 . Os mais utilizados na indústria alimentar são: anidrido sulfuroso, metabisulfito de sódio ou potássio, bissulfito de sódio ou potássio e sulfito de sódio. Todos estes seis compostos são conservadores químicos, considerados substâncias GRAS, exceto para uso em frutos e vegetais (excluindo batatas e uvas) a serem prontamente servidos ou vendidos. Esses compostos podem ser utilizados em todos os alimentos, exceto carne ou alimento que é reconhecidamente fonte de vitamina B₁. (Fazio et al., 1990)

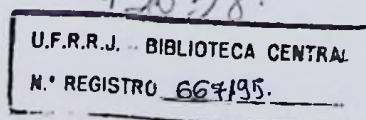
Os níveis requeridos desses agentes sulfitantes para se conseguir o efeito tecnológico desejado, dependerão dos diferentes equivalentes de óxido de enxofre gerados por eles. (Pizzoferrato et al., 1990)

A propriedade conservadora desses aditivos é devida a tendência do íon sulfito, de reagir por adição com grupos carbonil, ligação dupla C-C, quinonas, compostos nitrogenados heterocíclicos ou por clivagem da ligação dissulfito. (Wedzicha, 1984)

Quando adicionado ao suco, parte deste agente sulfitante liga-se a algumas moléculas do alimento e a outras não. A porção do agente sulfitante que não se combina com o alimento é chamada de "SO₂ livre". Este SO₂ livre é uma mistura de SO₂, íon bissulfito e íon sulfito, em equilíbrio dinâmico. O percentual de cada uma das três espécies no alimento dependerá do pH (acidez). Duas formas de ligações sulfito tem sido observadas: reversíveis e irreversíveis.

O íon bissulfito é a forma predominante na faixa de pH 3-7. Abaixo de pH 4,5 o íon sulfito não está presente; portanto, na interação agente sulfitante-alimento a espécie que reagirá com o alimento será o íon bissulfito, pois é o predominante na faixa de pH onde se encontram a maioria dos alimentos. (Fazio et al., 1990).

A figura 3, mostra essas variações em função do pH.



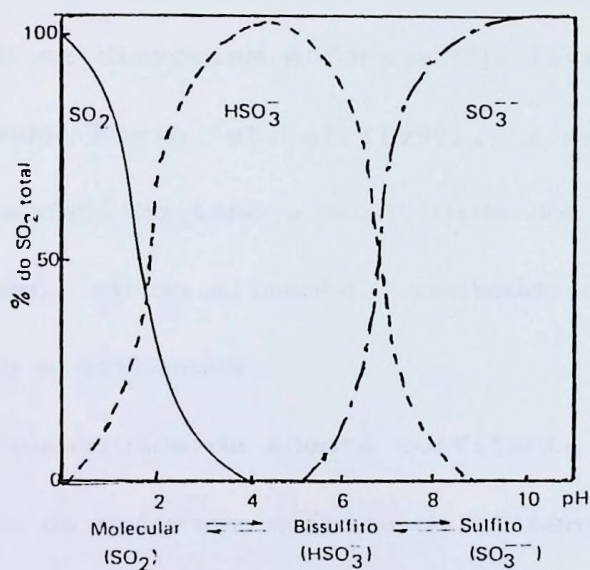
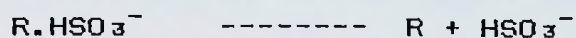


Figura 3 - Proporção de SO_2 molecular, HSO_3^- e SO_3^{2-} em solução aquosa, em função do pH do meio.

Fonte: Modderman, 1986.

O complexo formado é representado abaixo, em sua forma reversível. (Fazio et al., 1990)



Sob certas condições, algumas destas ligações sulfito (reversíveis) se dissociam e formam SO₂ livre.

Segundo Fazio et al. (1990), a proporção destas ligações sulfito, dependerá do tipo e quantidade dos constituintes alimentares que reagem, pH do alimento, conteúdo de água e condições de processamento e estocagem.

A quantidade de agente sulfitante adicionado é grandemente dependente da natureza química do alimento, o tipo e o tempo de processamento usado, tempo de permanência, condições de estocagem, e permeabilidade da embalagem. Os agentes sulfitantes reagem prontamente com uma variedade de constituintes do alimento, incluindo açúcares redutores, aldeídos e cetonas, proteínas, ácido ascórbico, polifenoloxidasas e pigmentos, formando vários sulfitos combinados. (Anon., 1986)

Os produtos finais que permanecem no alimento sulfitado são sulfato e pequenas quantidades de SO₂ livre. Para muitos alimentos, mesmo se a quantidade inicial de agente sulfitante é convertida para hidroxissulfonato, tais compostos com ligações sulfito

liberarão sulfitos adicionais durante o processamento. Medidas de SO_2 total durante o processamento de alimentos indicam um decréscimo de SO_2 , gás, concluindo-se que o agente sulfitante adicionado foi também perdido para a atmosfera como SO_2 ou oxidado para sais de sulfato.

Presentemente, métodos de determinação de SO_2 são diferenciados, medindo-se : SO_2 livre ou SO_2 livre e ligado (total). O SO_2 ligado significa aqueles compostos que liberam SO_2 num forte meio ácido ou básico e o SO_2 livre significa aquela espécie sulfito não combinada com os constituintes do alimento. (Modderman, 1986)

2.3.1 - Em geral.

Moylan et al. (1986), descreve a utilização de bissulfito na forma de metabissulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$), no processamento de batatas com dois propósitos: o primeiro como inibidor de reações de oxidação durante o processamento, isto é, prevenção do escurecimento enzimático; segundo como aditivo direto em produtos tais como batatas granuladas desidratadas, em flocos e fatiadas, como também em produtos congelados, preservando a qualidade do produto original por retardar as reações oxidativas que resultam em formação de compostos químicos indesejáveis.

Os níveis máximos de SO_2 em alimentos estão sujeitos a

periódicas revisões e presentemente nos Estados Unidos, a faixa varia de 0 até várias centenas de ppm ou mg/Kg em diferentes alimentos. O SO_2 é talvez o aditivo mais associado a refrigerantes, molhos e geléias, onde é permitido em concentrações máximas de 350, 450 e 100 ppm, respectivamente. (Kearsley et al., 1982)

2.3.2 - Em sucos.

A escolha de agentes sulfitantes na conservação de sucos deve-se ao fato de serem eles os mais efetivos no retardamento do início de mudanças resultantes de algumas das reações de deterioração que ocorrem durante o armazenamento de sucos de frutas congelados e conservados à temperatura baixa ou ambiente.

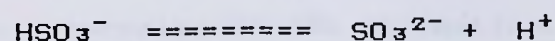
Para que os alimentos processados se conservem por mais tempo, é necessário não somente que os microorganismos sejam destruídos, mas também que a atividade enzimática seja inibida ou bloqueada. Poucos são os métodos que podem ser empregados para inibição enzimática em alimentos, devido a problemas de toxidez, desenvolvimento de aromas estranhos, ou mesmo devido a problemas econômicos. Os principais métodos empregados neste caso, são : calor, mudanças de pH até valores extremos, adição de sulfito ou dióxido de enxofre. Congelamento é também bastante empregado. (Bobbio et al., 1989)

Algumas das causas deste escurecimento são: a oxidação da vitamina C, pigmentos carotenóides, aromas e compostos fenólicos. (Cheftel et al., 1989)

A ação do anidrido sulfuroso não está totalmente esclarecida, porém julga-se que grande parte dele fixa-se sobre os enlaces carbonilas dos açúcares presentes, reage com quinonas que, desse modo, ficam bloqueadas e também atuam diretamente sobre a polifenoloxidase, cuja perda de integridade ocorre pela ação do íon SO_3^{2-} sobre a ponte dissulfídica das proteínas. (Barnett, 1985)

Empregam-se, então, como agente inibidor destas reações, os agentes sulfitantes, que constituem o único inibidor eficaz.

Com respeito à ação preservativa do SO_2 no escurecimento não enzimático no alimento, deve-se a tendência do íon sulfito se ligar por adição (Wedzicha, 1987). Esta espécie é derivada da ionização do íon sulfito de hidrogênio e sua concentração depende do pH do alimento em questão e a constante de dissociação do ácido. O pK para o equilíbrio :



é 7,18 a 25°C , extrapolado para força iônica zero. Pode-se supor que, acima da faixa de pH do alimento, a espécie predominante é HSO_3^- . (Wedzicha et al., 1988)

Quanto aos teores de SO_2 utilizados, Zipper (1974) pesquisou as concentrações necessárias a preservação de suco de limão e laranja, por 12 meses a temperatura ambiente, obtendo os seguintes dados :

- O suco de limão requereu um mínimo de 600 mg/l de SO_2 livre para a sua efetiva preservação por este período.
- O teor de SO_2 total necessário a preservação de sucos integrais de frutas deverá ser no mínimo 600 mg/l e preferencialmente 900 mg/l.
- Adicionando-se 900 mg/l de SO_2 total ao suco de limão, notou-se que após seis meses de estocagem, o nível de SO_2 livre caiu abaixo de 450 mg/l, esta concentração mostrou-se insuficiente no caso deste produto ser utilizado como matéria prima.

2.3.3 - Prevenção do escurecimento não enzimático.

Os agentes sulfitantes reagem com os grupos carbonilas, as bases de Schiff, os compostos carbonila não saturados, resultando sulfonatos, fixando assim os produtos intermediários mais reativos no escurecimento não enzimático.

Os sulfitos fixam os produtos intermediários mais reativos do escurecimento não enzimático, com os quais aumentam o período de indução, retardando o aparecimento de pigmentos. Nota-se que,

desaparecendo os sulfitos livres, reinicia-se o processo de escurecimento, como é demonstrado na figura 4.

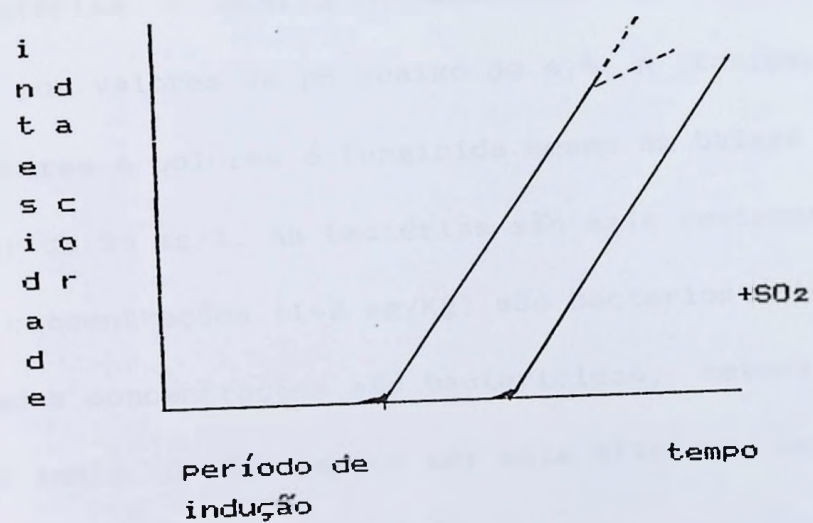
2.3.4 - Prevenção da atividade enzimática.

Os agentes sulfitantes agem na inibição das reações enzimáticas, pelo bloqueio dos grupos carbonila, evitando a sua oxidação enzimática ou pelo bloqueio das quinonas formadas enzimaticamente, ou ainda pela ação destes agentes sulfitantes sobre a própria enzima. (Cheftel et al., 1989)

Sayavedra-Sato et al. (1986), pesquisou a ação do sulfito na inibição do escurecimento enzimático, notando que não há inibição da polifenol oxidase (PPO) em pH acima de 7, a menos que a concentração de sulfito seja maior que 2,0 mg/ml.

A pH 5 e inferior, o componente responsável pela inibição da PPO é o HSO_3^- . O aumento da concentração de sulfitos progressivamente inibe a enzima. Não há regeneração da enzima após a reação. O uso de pH baixo reduz a concentração de sulfito necessária a inativação da enzima. (Bertitz et al., 1982)

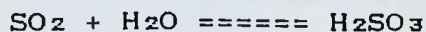
Figura 4 - Cinética do escurecimento não enzimático.



Fonte: Cheftel et al., 1989.

3.5 - Inibição microbiológica pelo SO₂.

Em solução aquosa o dióxido de enxofre e sais de sulfito formam ácido sulfuroso e íons bissulfito e sulfito:



O ácido sulfuroso inibe o crescimento de mofos, leveduras e bactérias. O efeito antimicrobiano do dióxido de enxofre é realçado por valores de pH abaixo de 4,5. A toxidez é seletiva, contra leveduras e bolores é fungicida mesmo em baixas concentrações, ao redor de 25 mg/l. As bactérias são mais resistentes, sendo que baixas concentrações (1-2 mg/Kg) são bacteriostáticas, ao passo que elevadas concentrações são bactericidas, embora a razão letal seja mais lenta, o SO₂ parece ser mais eficiente contra bactérias Gram⁻ comparativamente às Gram⁺.

O mecanismo de inibição inclui a reação do bissulfito com o acetaldeído formado na glicólise bloqueando-o, impedindo assim a regeneração do NADH; além disso, reduzem as ligações dissulfídicas das enzimas; destroem a tiamina; afetam a membrana pela peroxidação dos lipídios e alteram o metabolismo celular. (Leitão, 1990)

2.3.6 - Fatores adversos.

Quanto aos fatores adversos ligados ao uso de SO_2 , poderão ser citados : sensibilidade de indivíduos asmáticos, manifestações cutâneas em pessoas alérgicas (urticária), diarreia, dor abdominal, dor de cabeça, náusea e vertigem. (Fazio et al., 1990)

A via de metabolismo do sulfito, consiste na sua oxidação para sulfato via enzima sulfito oxidase, que é uma enzima largamente distribuída no organismo dos mamíferos e achada com maior atividade no fígado, coração e rins.

Um adulto excreta geralmente cerca de 2,5 g de sulfato por dia em sua urina. (Anon., 1986)

As manifestações asmáticas são atribuídas a indivíduos com deficiência de enzima sulfito oxidase.

2.4 - Análises de SO_2 .

Quanto aos métodos de determinação de SO_2 em alimentos, existem vários citados na bibliografia :

- O método de Monier-Williams, determina SO_2 total por ataque da amostra com HCl concentrado em atmosfera inerte, o SO_2 assim gerado será recolhido em solução a 3% de H_2O_2 , onde será oxidado para H_2SO_4 , sendo este estequiometricamente determinado por titulação com solução de NaOH . Este método apesar de ser criticado por mui-

tos pesquisadores por fornecer resultados superestimados devido a codestilação de compostos voláteis, interferindo no resultado final, é reconhecidamente um método tradicional e adotado em muitos países como oficial.

Vários métodos alternativos têm sido sugeridos e em diversos trabalhos estes são comparados ao método de Monier-Williams. (Pizzoferrato et al., 1990)

- Método combinado : Monier-Williams - HPLC.

O SO₂ coletado é oxidado para sulfato com solução de peróxido de hidrogênio, segundo o método de Monier-Williams, e neutralizada com solução de hidróxido de sódio. A solução neutralizada é diluída e injetada no aparelho de HPLC, consistindo de uma coluna de troca iônica forte, eluída com solução de ftalato ácido de potássio. O detetor utilizado é espectrofotométrico UV em $\lambda = 280$ nm. (Pizzoferrato et al., 1990)

- Análise de sulfitos totais, usando rápida destilação, seguida por titulação redox.

O método combina uma destilação seletiva do sulfito, seguida por titulação de redox seletiva do sulfito pelo iodo. (Devries et al., 1986)

- Análise por HPLC, com troca iônica direta.

Consiste na extração da amostra com solução de etanol a 10%, que após filtração em coluna apropriada é injetada no cromatógrafo. O detetor utilizado é amperométrico. (Lawrence et al., 1990)

- Análise por HPLC, íon exclusão direta, usando detetor eletroquímico.

A análise de SO_2 livre e total, por cromatografia iônica, utiliza detetor eletroquímico e consiste na extração dos sulfitos do alimento a pH 2,0 e 8,9; respectivamente e separação em coluna de exclusão de ânions, usando solução de H_2SO_4 6 mM, como eluente. (Kim et al., 1986 e Kim et al., 1987)

- Flow injection.

No sistema de análise "flow injection", a amostra primeiramente reagirá com solução de hidróxido de sódio. Depois é acidificada para produzir SO_2 gasoso, o qual atravessa uma membrana de Teflon na célula de difusão gasosa, fluindo por malaquita verde, que é descolorida. O grau de descoloração da malaquita verde é proporcional a quantidade de sulfito na amostra. (Sullivan et al., 1990)

Método enzimático.

Usando a enzima sulfito oxidase isolada de fígado de ga-

linha, o sulfito é oxidado a sulfato, formando peróxido de hidrogênio. O sulfato, então reage com NADH na presença de NADH-peroxidase, obtida de micoorganismos. O decréscimo de NADH é proporcional a concentração de sulfito, que é medido fotometricamente. (Beutler, 1984)

Método Polarográfico Pulso Diferencial.

O SO_2 é purgado com nitrogênio da amostra acidificada, coletado em solução tampão e determinado no analisador polarográfico. (Holac et al., 1987)

Método de Committee,

Consiste na destilação da amostra em meio ácido, seguida de titulação do destilado com iodo em presença de amido, como indicador. (Klavons et al., 1985 e Moylan et al., 1986)

Método de Buchi.

Usa um aparelho de destilação semi-automático (aparelho de Buchi), onde a amostra é destilada em meio ácido. O SO_2 liberado é recolhido em solução de iodo, sendo o excesso titulado com solução de tiosulfato de sódio, usando amido como indicador. (Kearsley et al., 1982)

Cromatografia líquida de headspace.

A amostra é tratada com solução manitol alcalino até pH 11. Adiciona-se uma alíquota da amostra no conjunto headspace,

tendo-se o cuidado de se retirar o ar. Após 15 minutos adiciona-se solução de ácido fosfórico a 50%. A amostra a ser injetada, compreende um volume do headspace do conjunto headspace. O detector utilizado é o amperométrico. (Lawrence et al., 1988)

- Determinação simultânea de ácido ascórbico e sulfito.

A separação é feita por célula amperométrica em combinação com cromatografia de íon-exclusão. (Wagner et al., 1991)

- Espectrofotométrico.

Sulfitos reagem com solução de hidrocloreto de p-rosalina e formaldeído, formando um composto de coloração avermelhado-púrpura (ácido metil sulfônico p-rosalina). (Cox et al., 1985)

2.5 - Síntese.

Visto que o limão é um fruto de grandes possibilidades de utilização industrial, pois pode ser usado como suco integral resfriado, suco integral assepticamente conservado, suco concentrado e como base para refrescos e refrigerantes, torna-se necessário o estudo de condições de estocagem adequadas para que o mesmo esteja disponível por maior tempo no mercado e promova um equilíbrio de preços durante a época de escassez.

A utilização de agentes sulfitantes em sucos é citada em literatura, porém poucos são os trabalhos que abordam condições de

estocagem unindo temperatura e conservantes.

Foram analisadas aqui duas condições consideradas econômicas e viáveis a fim de que o suco possa ser preservado por um período mais longo, assegurando sua integridade, a qual foi avaliada por análises físicas, químicas e sensoriais.

Este lote, após nova homogeneização foi prontamente acondicionado em recipientes de polietileno branco opaco, com capacidade aproximada de 500 g, num total de vinte e um frascos, dos quais sete foram estocados à -20°C , sete à 5°C e os sete restantes à 30°C .

Ao segundo, terceiro e quarto lotes foram adicionadas quantidades de metabissulfito de sódio (Merck para análise 6528), em quantidades suficiente para a obtenção de concentração de SO_2 total de 500 ppm, 1000 ppm e 1500 ppm de SO_2 , respectivamente. Usou-se para a homogeneização um agitador Junkel & Kunnel Rikc Werc, Rw 20. Após dissolução completa do metabissulfito, as amostras foram também acondicionadas em frascos de capacidade aproximada de 500 g e estocadas à -20 , 5 e 30°C .

As amostras conservadas à 30°C , foram analisadas inicialmente de quatro em quatro dias, sendo posteriormente este intervalo aumentado para sete dias, esperando-se assim que mudanças mais acentuadas na cor e nas suas características físico-químicas fossem observadas. As amostras conservadas à 5°C , foram analisadas a cada quinze dias.

O fluxograma deste procedimento é apresentado na figura 5.

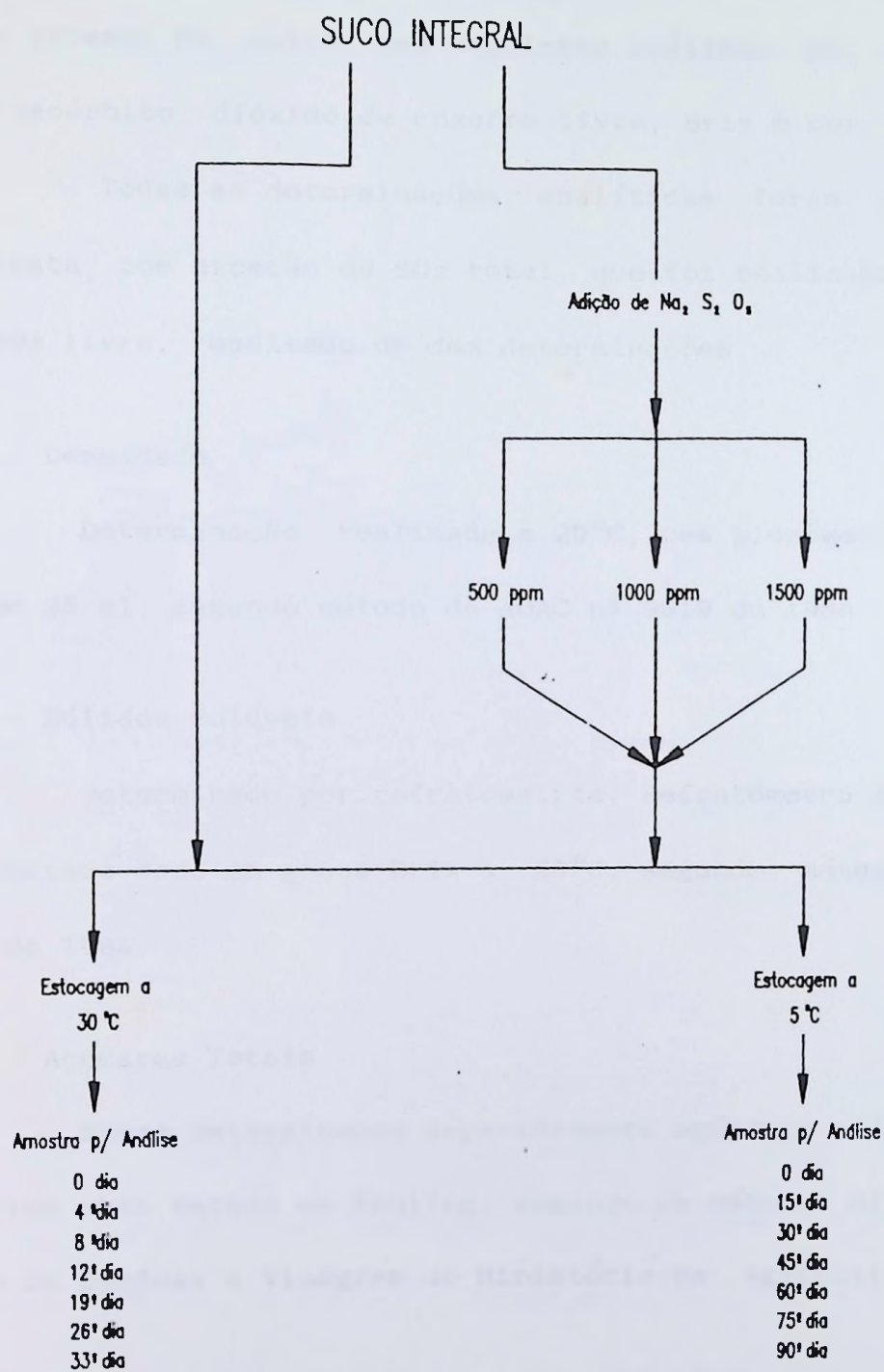


Figura 5 - Fluxograma do procedimento

O suco foi submetido a centrifugação com o auxílio de Lourdes Clinical Centrifuge, por cerca de 10 minutos, para eliminação do excesso de polpa, nas seguintes análises: pH, acidez total, ácido ascórbico, dióxido de enxofre livre, Brix e cor.

Todas as determinações analíticas foram realizadas em triplicata, com exceção de SO₂ total, que foi realizada em duplicata e SO₂ livre, resultado de dez determinações.

3.2.1 - Densidade

Determinação realizada a 20°C, com picnômetro de capacidade de 25 ml, segundo método do AOAC nº 9019 de 1984.

3.2.2 - Sólidos Solúveis

Determinado por refratometria, Refratômetro Abbe Mark II, e resultado dado em graus Brix a 20°C, segundo método do AOAC nº 2026 de 1984.

3.2.3 - Açúcares Totais

Foram determinados separadamente açúcares redutores e não redutores pelo método de Fehling, segundo os Métodos Oficiais de Análise de Bebidas e Vinagres do Ministério da Agricultura (Brasil, 1986).

3.2.4 - pH

Em potenciômetro digital Methrom 832, determinação feita a 20°C, segundo método do AOAC nº 32010 de 1984.

3.2.5 - Acidez Total

Determinado por titulação com NaOH 0,1 N, conforme método nº 13.6.2. de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1976).

3.2.6 - Avaliação da Cor

O suco foi submetido a duas filtrações, inicialmente utilizando-se papel de filtro Wathman nº 4, seguida de filtração com GLASSFIBRE PREFILER SARTORIUS GmgH - 3400 e Regenerated CELLULOSE SARTORIUS AG-W-3400, obtendo-se assim uma amostra isenta de turvações. Fez-se, então, uma varredura da amostra em todo o campo UV-Visível, usando-se para tal um espectrofotômetro Micronal B390.

3.2.7 - Ácido Ascórbico

Determinado por HPLC, segundo método AOAC nº 22801 (Association of Official Analytical Chemists vol.69, nº 2, 1986). Inicialmente, o suco deve ser submetido a duas filtrações, a primeira utilizando-se papel de filtro Wathman nº 4, seguida de filtração com GLASSFIBRE PREFILTER SARTORIUS GmbH 3400 e Regenerated CELLULOSE SARTORIUS AG - W - 3400, obtendo-se assim a amostra pronta para ser

injetada no sistema de cromatografia líquida. O ácido ascórbico é então separado, utilizando-se duas colunas em fase reversa, Supercosil LC18 (25 cm x 4,6 mm) e Radial-Pak C18 (10cm de comprimento), usadas com Módulo de Compressão Radial. O aparelho utilizado foi um Perkin Elmer, série 2, modelo LC75, com detetor de UV, no comprimento de onda de 214 nm.

3.2.8 - Dióxido de Enxofre Livre

Análise com base na reação iodo-iodeto-amido, citada em AOAC método nº 20114 de 1980.

Fundamenta-se no fato de que agentes redutores, tais como dióxido de enxofre e ácido ascórbico são oxidados quantitativamente em presença de iodo. O fim da titulação é determinada pela presença de iodo livre, e este pode ser detectado usando-se amido como indicador.

A determinação de SO_2 livre foi realizada em duas etapas: a primeira determina o total de substâncias que reduzem o iodo, por titulação direta do suco não acidificado com solução de iodo 0,05 N e solução de amido para determinação do ponto final. Numa segunda etapa, a uma outra alíquota de suco de mesmo volume ou peso, adiciona-se 2 a 3 ml de acetona. Esta mistura deverá repousar por cerca de dez minutos, quando a acetona combina-se com o dióxido de enxofre.

fre livre e, em consequência, titula-se novamente com a solução de iodo em presença de amido. A diferença entre as duas titulações é a medida do dióxido de enxofre livre.

As duas etapas da titulação deverão acontecer em meio ácido fraco, como é o do suco de limão. Segundo Boyd et al. (1961), a reação do íon sulfito com a acetona é reversível, tal como outras de adição do grupo carbonila, que por adição de ácido ou base fortes ao sistema destrói o íon hidrogeno-sulfito em equilíbrio com o produto de adição, regenerando-se o composto carbonila.

Verificou-se em estudos preliminares de fixação de metodologia, ser necessária a realização de no mínimo dez titulações de cada etapa, para a obtenção de resultados estatisticamente significativos.

3.2.9 - Dióxido de Enxofre Total

Utilizou-se o método de Monnier Williams, descrito nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, nº 5.3.1.2.2. de 1976, que consiste na destilação da amostra em meio ácido e atmosfera inerte, absorção do SO_2 deslocado, em solução de peróxido de hidrogênio a 3%, o qual converte-o a ácido sulfúrico. O ácido sulfúrico formado é então determinado por titulação potenciométrica, com NaOH 0,05 N e comparação com um branco.

Utilizou-se o potenciômetro digital Methrom 832, devidamente apdronizado.

3.2.10 - Análise Sensorial

Com respeito a análise sensorial foram realizados testes do tipo Triangular, usando uma escala de grau de diferença de cinco pontos e em adição, dezoito 18 provadores treinados foram arguidos sobre a preferência, tendo como padrão o suco de limão estocado à -20°C , sem adição de metabissulfito de sódio.

Foram escolhidos para o teste sensorial as amostras localizadas nos extremos e meio do tratamento, isto é, do suco estocado à 30°C , as amostras selecionadas corresponderam a 0, 12 e 33 dias, as quais receberam adição de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, que lhes proporcionaram concentrações de 0, 500, 1000 e 1500 ppm de SO_2 . Com relação ao tratamento a 5°C , as amostras selecionadas corresponderam a 0, 45 e 90 dias, respectivamente, com as mesmas concentrações de SO_2 .

O delineamento estatístico foi estabelecido, segundo as tabelas publicadas por Meilgaard et al.(1987).

A bebida preparada para o teste sensorial seguiu a formulação de um refrigerante de limão, obdecendo aos Padrões de Identidade e Qualidade exigidos por lei (Brasil, Portaria nº 902 de 06 de novembro de 1976 do M.A.), ou seja:

- Suco de limão com 5% de acidez = 3%
- Açúcar = q.s.p. (11^o Brix na bebida)
- Ácido cítrico = q.s.p. (acidez de 0,18% p/v em ácido cítrico anidro na bebida.
- Benzoato de sódio = suficiente para que a bebida possua um máximo de 0,035 g/100 ml (P.I)
- Aroma natural de limão = q.s.p. (F.III)
- Água carbonatada = suficiente para que a bebida possua 2,8 volumes de CO₂ dissolvido.

A bebida foi testada após três dias de envelhecimento (arredondamento).

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - ANÁLISE DO SUCO DE LIMÃO

Na escolha das variáveis a serem determinadas no suco levaram-se em conta aquelas que sofreriam maiores influências ou mudanças no decorrer do experimento. Portanto, como o interesse principal do estudo seria avaliação da qualidade do suco de limão conservado com agentes sulfitantes, quando estocado à temperaturas de 5°C e 30°C, as análises consideradas de maior influência foram: SO₂ total, SO₂ livre, ácido ascórbico, acidez total, açúcares totais (reduzidores e não reduzidores), pH, brix, densidade, avaliação da cor e análise sensorial.

A análise do suco recebido, apresentou o seguinte resultado:

Densidade	= 1,0341
Sólidos solúveis	= 7,9 %
Açúcares reduzidores	= 1,3 g%

Açúcares não redutores = 0,5 g%

pH = 2,5

Acidez total = 4,50 g% (em ácido cítrico anidro)

Ácido ascórbico = 417 ppm

4.1.1 - DENSIDADE.

Observando-se a tabela VI e figura 6, nota-se que os resultados da densidade do suco com 500 ppm de SO_2 não apresentaram modificações apreciáveis, somente pequenas variações no decorrer do tempo de estocagem. Estas variações podem ser atribuídas a erro de análise, devido a grande dificuldade de homogeneização.

Quanto aos sucos com 1000 e 1500 ppm de SO_2 , também não foram observadas tendências de modificações, somente flutuações dos resultados ocasionadas por dificuldades na homogeneização do produto.

Os resultados de análise da amostra correspondente a 0 ppm de SO_2 não constam da tabela VI, pois o suco apresentou contaminação microbiológica, devido a alta temperatura de estocagem e a ausência de conservante. A contaminação foi constatada a partir do 4º dia de estocagem. A análise microbiológica apresentou resultado positivo, para os seguintes testes : O.S.A. (Orange Serum Agar), P.C.A. (Plate Count Agar) e A.B.D. (Agar Batata Dextrose).

Segundo os dados da tabela VII, as diferenças entre os resultados obtidos no suco com 500, 1000 e 1500 ppm de SO_2 , não são significativas, porém, quando se analisa a correlação entre as concentrações, nota-se que existe uma relação linear entre elas.

TABELA VI - DENSIDADE A 20°C NO SUCO ESTOCADO À 30°C.

Tempo de estocagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)			
	0	500	1000	1500
0	1,0341 <u>+0,0007</u>	1,0341 <u>+0,0007</u>	1,0354 <u>+0,0007</u>	1,0385 <u>+0,0007</u>
4	-	1,0313 <u>+0,0001</u>	1,0308 <u>+0,0003</u>	1,0334 <u>+0,0003</u>
8	-	1,0336 <u>+0,0001</u>	1,0361 <u>+0,0003</u>	1,0384 <u>+0,0003</u>
12	-	1,0336 <u>+0,0001</u>	1,0360 <u>+0,0002</u>	1,0385 <u>+0,0002</u>
19	-	1,0339 <u>+0,0001</u>	1,0363 <u>+0,0001</u>	1,0393 <u>+0,0001</u>
26	-	1,0333 <u>+0,0001</u>	1,0364 <u>+0,0001</u>	1,0397 <u>+0,0001</u>
33	-	1,0341 <u>+0,0001</u>	1,0361 <u>+0,0001</u>	1,0394 <u>+0,0001</u>

TABELA VII - ESTATÍSTICA DOS DADOS DA TABELA VI.

SO ₂ (ppm)	T	R	F
500	0,817	0,343	0,668
1000	1,255	0,489	1,574
1500	1,539	0,567	2,369
500	Não sig.	Não ∃	Não sig.
1000	Não sig.	Não ∃	Não sig.
1500	Não sig.	Não ∃	Não sig.

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES			
SO ₂ (ppm)	500	1000	1500
500	1	0,91	0,92
1000	0,91	1	0,98

T = Distribuição de Student ($t_{0,95}$)

F = Distribuição Fisher-Snedecor (F=1, 5% de probabilidade)

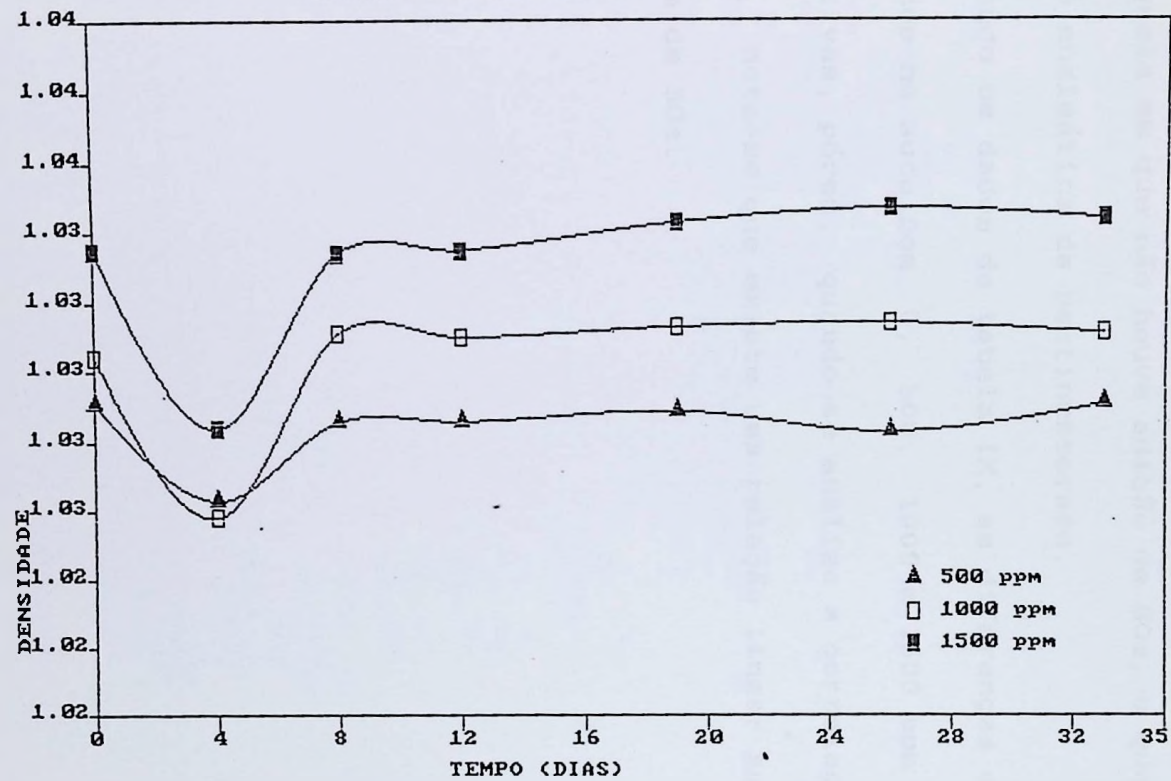
R = coeficiente de correlação

Não sig. = Não há essencialmente, diferença importante entre os resultados obtidos.

Sig. = Há uma diferença significativa entre eles

∃ = Existe correlação linear

FIGURA 6 - DENSIDADE A 30 GRAUS CELSIUS



Pela observação da tabela VIII e figura 7, que mostram os resultados da análise do suco estocado à 5°C, nota-se que não ocorreram mudanças relevantes dos valores da densidade, somente flutuações ocasionadas por problemas de homogeneização da amostra, principalmente naquela em que não houve adição de SO₂, o que pode-se atribuir a ação enzimática da pectinesterase.

Segundo os dados da tabela IX, as diferenças entre os resultados obtidos no suco com 0, 500, 1000 e 1500 ppm de SO₂, não são significativas, porém, quando se analisa a correlação entre as concentrações, nota-se que existe uma relação linear somente entre 500 e 1000 ppm de SO₂.

TABELA VIII - DENSIDADE A 20°C DO SUCO ESTOCADO À 5°C.

Tempo de estocagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)			
	0	500	1000	1500
0	1,0341 <u>+0,0001</u>	1,0341 <u>+0,0001</u>	1,0354 <u>+0,0001</u>	1,0385 <u>+0,0001</u>
15	1,0356 <u>+0,0001</u>	1,0330 <u>+0,0001</u>	1,0335 <u>+0,0001</u>	1,0380 <u>+0,0002</u>
30	1,0325 <u>+0,0005</u>	1,0332 <u>+0,0001</u>	1,0334 <u>+0,0001</u>	1,0378 <u>+0,0001</u>
45	1,0353 <u>+0,0008</u>	1,0333 <u>+0,0003</u>	1,0335 <u>+0,0000</u>	1,0385 <u>+0,0002</u>
60	1,0346 <u>+0,0009</u>	1,0331 <u>+0,0004</u>	1,0336 <u>+0,0002</u>	1,0387 <u>+0,0001</u>
75	1,0346 <u>+0,0006</u>	1,0323 <u>+0,0002</u>	1,0333 <u>+0,0002</u>	1,0388 <u>+0,0001</u>
90	1,0327 <u>+0,0006</u>	1,0331 <u>+0,0003</u>	1,0336 <u>+0,0002</u>	1,0384 <u>+0,0004</u>

TABELA IX - ESTATÍSTICA DOS DADOS DA TABELA VIII.

SO ₂ (ppm)	T	R	F
0	-0,611	-0,264	0,373
500	-1,947	-0,657	3,791
1000	-1,634	-0,590	2,670
1500	1,185	0,468	1,404
0	Não sig.	Não ∃	Não sig.
500	Não sig.	Não ∃	Não sig.
1000	Não sig.	Não ∃	Não sig.
1500	Não sig.	Não ∃	Não sig.

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES				
SO ₂ (ppm)	0	500	1000	1500
0	1	-0,13	-0,04	0,32
500	-0,13	1	0,84	-0,19
1000	-0,04	0,84	1	0,14

T = Distribuição de Student ($t_{0,95}$)

F = Distribuição Fisher-Snedecor (F=1, 5% de probabilidade)

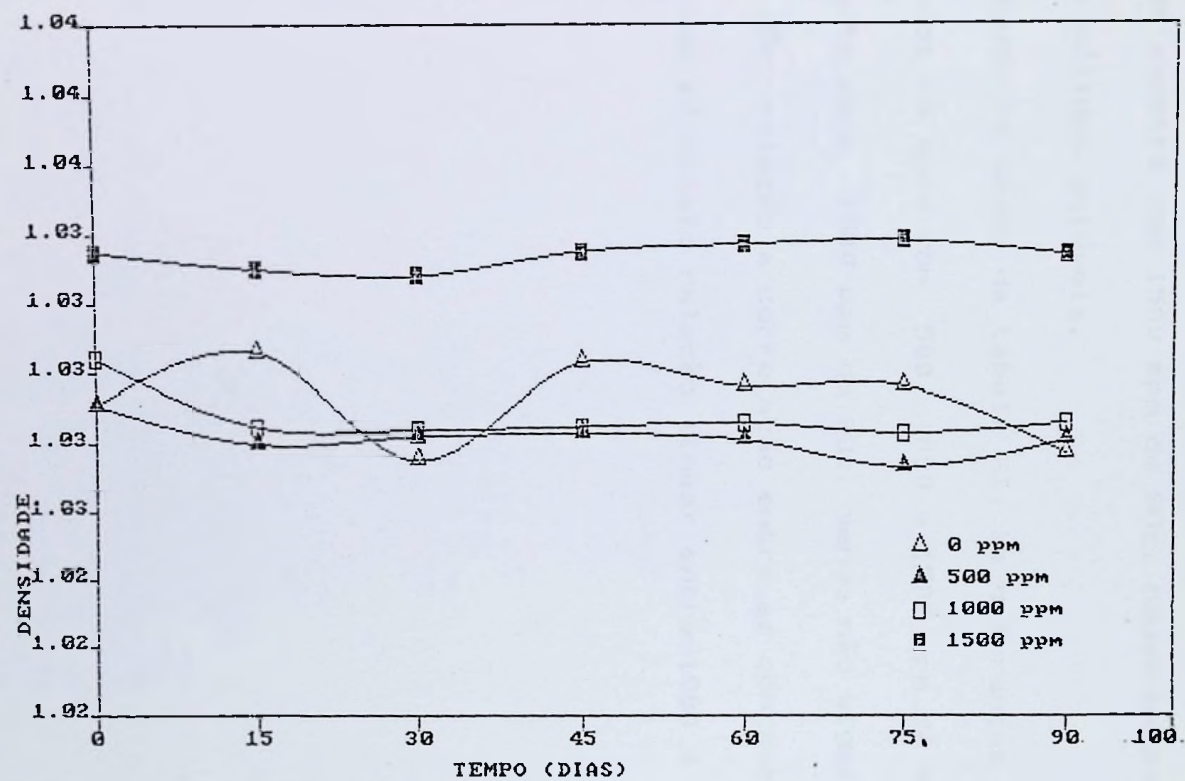
R = coeficiente de correlação

Não sig. = Não há essencialmente, diferença importante entre os resultados obtidos

Sig. = Há uma diferença significativa entre eles

∃ = Existe correlação linear

FIGURA 7 - DENSIDADE A 5 GRAUS CELSIUS



4.1.2 - SÓLIDOS SOLÚVEIS.

Observando-se a tabela X e figura 8, pode-se afirmar que nas amostras com 500 e 1000 ppm de SO_2 , não ocorreram mudanças apreciáveis. Na amostra com 1500 ppm de SO_2 , houve um pequeno aumento no teor de sólidos solúveis.

Segundo os dados da tabela XI, as diferenças entre os resultados obtidos no suco com 500, 1000 e 1500 ppm de SO_2 , é significativa somente para 1500 ppm de SO_2 , sendo não significativa para as demais. Em relação a correlação entre as concentrações pode-se verificar que só existe relação linear entre 1000 e 1500.

TABELA X - SÓLIDOS SOLÚVEIS (GRAUS BRIX) NO SUCO ESTOCADO À 30°C.

Tempo de estocagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)			
	0	500	1000	1500
0	7,9 <u>+0,0</u>	8,3 <u>+0,0</u>	8,5 <u>+0,0</u>	8,7 <u>+0,0</u>
4	-	8,1 <u>+0,1</u>	8,2 <u>+0,1</u>	8,5 <u>+0,1</u>
8	-	8,0 <u>+0,1</u>	8,4 <u>+0,1</u>	8,8 <u>+0,1</u>
12	-	8,4 <u>+0,1</u>	8,5 <u>+0,0</u>	8,8 <u>+0,1</u>
19	-	8,3 <u>+0,1</u>	8,6 <u>+0,1</u>	8,9 <u>+0,1</u>
26	-	8,3 <u>+0,0</u>	8,7 <u>+0,1</u>	8,9 <u>+0,1</u>
33	-	8,3 <u>+0,0</u>	8,6 <u>+0,1</u>	9,0 <u>+0,1</u>

TABELA XI - ESTATÍSTICA DOS DADOS DA TABELA X.

SO ₂ (ppm)	T	R	F
500	0,920	0,381	0,847
1000	2,284	0,715	5,216
1500	3,492	0,842	12,195
500	Não sig.	Não ∃	Não sig.
1000	Não sig.	Não ∃	Não sig.
1500	Sig.	∃	Sig.

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES			
SO ₂ (ppm)	500	1000	1500
500	1	0,66	0,44
1000	0,66	1	0,88

T = Distribuição de Student (to, 95)

F = Distribuição Fisher-Snedecor (F=1, 5% de probabilidade)

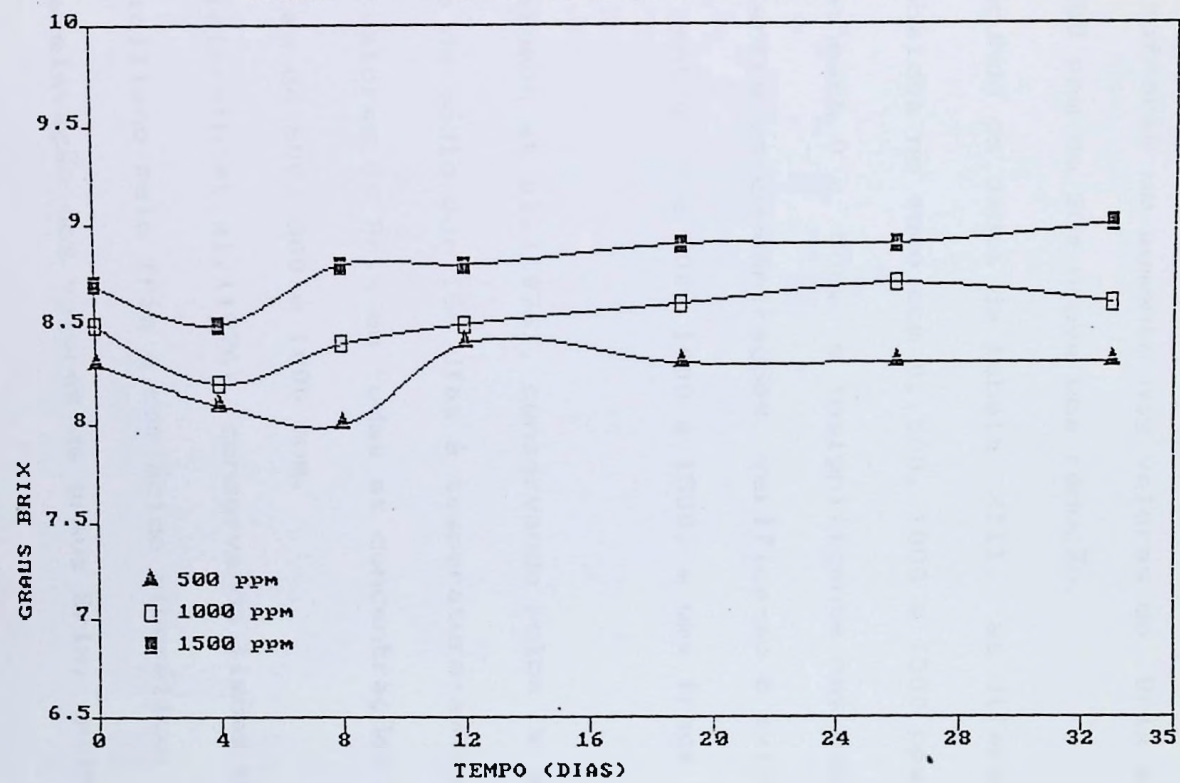
R = Coeficiente de correlação

Não sig. = Não há essencialmente, diferença importante entre os resultados obtidos

Sig. = Há uma diferença significativa entre eles

∃ = Existe correlação linear

FIGURA 8 - SÓLIDOS SOLÚVEIS A 30 GRAUS CELSIUS



Os resultados da análise de sólidos solúveis do suco es-
locado à 5°C, estão mostrados na tabela XII e figura 9. Verifica-se
ela observação destas, que as amostras correspondentes a 0 e 1500
ppm de SO₂ sofreram um aumento nos valores do Brix e nas amostras
com 500 e 1000 ppm de SO₂ houve uma redução.

Segundo os dados da tabela XIII, as diferenças entre os
resultados obtidos no suco com 0, 500, 1000 e 1500 ppm de SO₂ foram
significantes para 0 e 500, e insignificante nas demais, quanto à
correlação entre as concentrações, verifica-se a existência de re-
lação linear entre 0 e 500, 1000 e 1500, e uma fraca relação entre
e 1000.

Salomon et al.(1976), conservando polpa de goiaba com me-
tabissulfito de sódio por 180 dias à temperatura ambiente, observou
redução nos valores do Brix em todas as concentrações utilizadas de
O₂, que foram de 600, 800 e 1000 ppm.

Bleinroth et al.(1976), conservando limões das variedades
aiti e Siciliano pelo frio e com ácido giberélico, verificou uma
tendência na elevação dos valores de graus Brix, principalmente na
variedade Siciliano.

Rodriguez et al.(1991), em pesquisa com bebida alcoólica

feita com suco de laranja (8% de álcool e 30% de suco de laranja reconstituído), observou que os valores do brix não sofreram mudanças significativas, quando as bebidas foram estocadas a 4, 25 e 40°C, por 14 semanas.

TABELA XII - SÓLIDOS SOLÚVEIS (GRAUS BRIX) NO SUCO ESTOCADO À 5°C.

Tempo de estocagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)			
	0	500	1000	1500
0	7,9 <u>+0,0</u>	8,3 <u>+0,0</u>	8,5 <u>+0,0</u>	8,7 <u>+0,0</u>
15	8,3 <u>+0,0</u>	8,1 <u>+0,1</u>	8,0 <u>+0,1</u>	8,9 <u>+0,1</u>
30	8,0 <u>+0,0</u>	8,1 <u>+0,1</u>	8,0 <u>+0,1</u>	8,9 <u>+0,1</u>
45	8,4 <u>+0,1</u>	8,0 <u>+0,0</u>	8,0 <u>+0,0</u>	9,0 <u>+0,1</u>
60	8,3 <u>+0,1</u>	7,9 <u>+0,1</u>	8,0 <u>+0,1</u>	8,9 <u>+0,1</u>
75	8,6 <u>+0,1</u>	7,9 <u>+0,1</u>	7,9 <u>+0,0</u>	8,9 <u>+0,1</u>
90	8,6 <u>+0,1</u>	7,8 <u>+0,1</u>	7,9 <u>+0,1</u>	8,9 <u>+0,0</u>

TABELA XIII - ESTATÍSTICA DOS DADOS DA TABELA XII.

SO ₂ (ppm)	T	R	F
0	3,682	0,853	13,554
500	-8,434	-0,967	71,129
1000	-2,183	-0,698	4,765
1500	1,342	0,514	1,800
0	Sig.	∃	Sig.
500	Sig.	∃	Sig.
1000	Não sig.	Não ∃	Não sig.
1500	Não sig.	Não ∃	Não sig.

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES				
SO ₂ (ppm)	0	500	1000	1500
0	1	-0,88	-0,71	0,62
500	-0,88	1	0,82	-0,65
1000	-0,71	0,82	1	-0,88

T = Distribuição de Student (to, 95)

F = Distribuição Fisher-Snedecor (F=1, 5% de probabilidade)

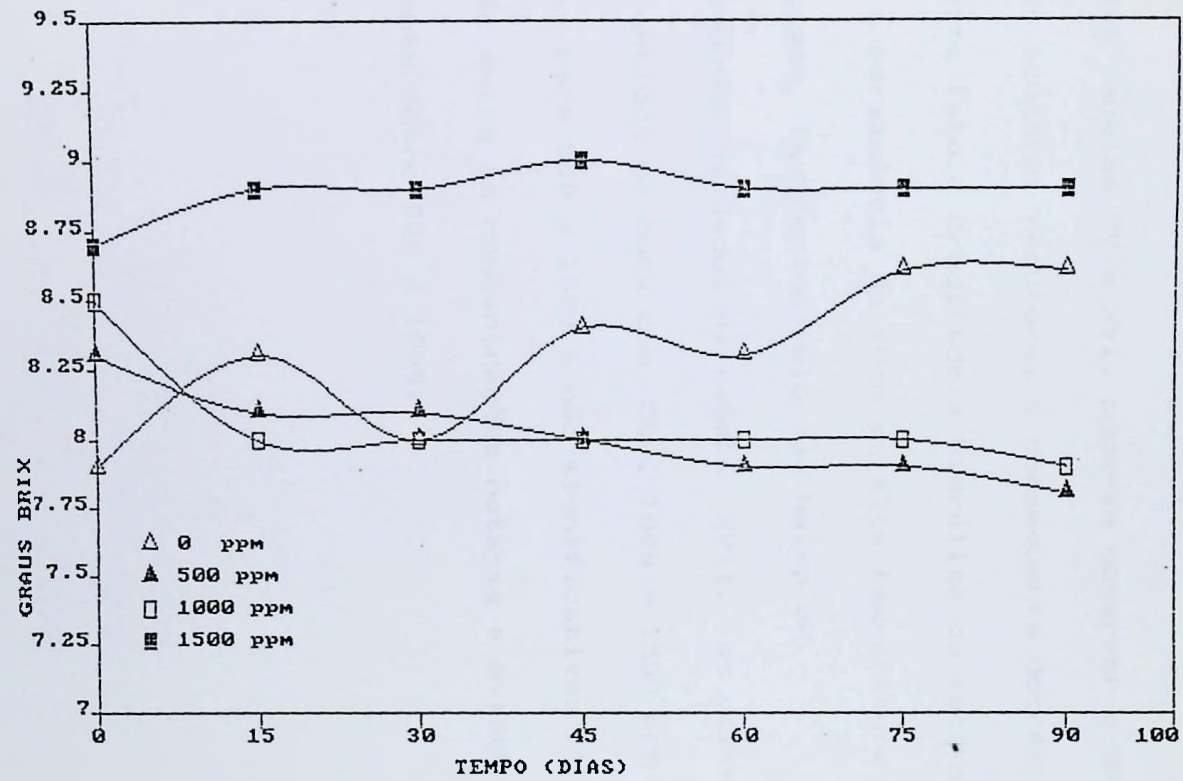
R = Coeficiente de correlação

Não sig. = Não há essencialmente, diferença importante entre os resultados obtidos

Sig. = Há uma diferença significativa entre eles

∃ = Existe correlação linear

FIGURA 9 - SÓLIDOS SOLÚVEIS A 5 GRAUS CELSIUS



4.1.3 - AÇÚCARES TOTAIS.

Pela observação das tabelas XIV, XV e XVI e figura 10, pode-se notar uma pequena tendência de aumento no teor de açúcares totais, em todas as concentrações de SO₂.

Nas tabelas XV e XVI, pode-se observar o aumento da concentração de açúcares redutores e conseqüente decréscimo no teor de sacarose. Este fato é creditado a hidrólise da sacarose, que ocorreu devido à permanência do suco em alta temperatura durante o tempo de estocagem, favorecido pelo seu baixo pH.

Segundo os dados da tabela XVII, as diferenças entre os resultados obtidos no suco com 500, 1000 e 1500 ppm de SO₂ são significativas para 500 e 1000 e não significativas para 1500. Quanto à correlação entre as concentrações nota-se a existência de relação linear somente entre 500 e 1000.

TABELA XIV - TEOR DE AÇÚCARES TOTAIS (g%) NO SUCO ESTOCADO À 30°C.

Tempo de estocagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)			
	0	500	1000	1500
0	1,8	1,8	1,8	1,8
4	-	1,8	1,8	1,8
8	-	1,8	1,8	2,0
12	-	1,8	1,9	1,9
19	-	1,8	1,9	1,9
26	-	1,9	2,0	2,0
33	-	1,9	2,0	2,0

TABELA XV - TEOR DE AÇÚCARES REDUTORES (g%) NO SUCO ESTOCADO À 30°C.

Tempo de estocagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)			
	0	500	1000	1500
0	1,3 <u>+0,1</u>	1,3 <u>+0,1</u>	1,3 <u>+0,1</u>	1,3 <u>+0,1</u>
4	-	1,4 <u>+0,1</u>	1,4 <u>+0,1</u>	1,4 <u>+0,1</u>
8	-	1,4 <u>+0,1</u>	1,4 <u>+0,1</u>	1,6 <u>+0,0</u>
12	-	1,5 <u>+0,1</u>	1,6 <u>+0,0</u>	1,7 <u>+0,0</u>
19	-	1,6 <u>+0,1</u>	1,7 <u>+0,0</u>	1,8 <u>+0,0</u>
26	-	1,9 <u>+0,1</u>	1,8 <u>+0,1</u>	1,9 <u>+0,0</u>
33	-	1,9 <u>+0,1</u>	1,9 <u>+0,0</u>	1,9 <u>+0,0</u>

TABELA XVI - TEOR DE SACAROSE (g%) NO SUCO ESTOCADO À 30°C.

Tempo de es- toccagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)			
	0	500	1000	1500
0	0,5 <u>+0,1</u>	0,5 <u>+0,1</u>	0,5 <u>+0,1</u>	0,5 <u>+0,1</u>
4	-	0,4 <u>+0,1</u>	0,4 <u>+0,1</u>	0,4 <u>+0,1</u>
8	-	0,4 <u>+0,0</u>	0,4 <u>+0,1</u>	0,4 <u>+0,1</u>
12	-	0,3 <u>+0,0</u>	0,3 <u>+0,0</u>	0,2 <u>+0,0</u>
19	-	0,2 <u>+0,0</u>	0,2 <u>+0,0</u>	0,2 <u>+0,0</u>
26	-	0,0 <u>+0,0</u>	0,2 <u>+0,0</u>	0,1 <u>+0,0</u>
33	-	0,0 <u>+0,0</u>	0,1 <u>+0,0</u>	0,1 <u>+0,0</u>

TABELA XVII - ESTATÍSTICA DOS DADOS DA TABELA XIV.

SO ₂ (ppm)	T	R	F
500	2,608	0,850	13,017
1000	6,849	0,951	46,902
1500	2,518	0,748	-6,339
500	Sig.	∃	Sig.
1000	Sig.	∃	Sig.
1500	Não sig.	Não ∃	Não sig.

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES			
SO ₂ (ppm)	500	1000	1500
500	1	0,87	0,65
1000	0,87	1	0,65

T = Distribuição de Student ($t_{0,95}$)

F = Distribuição Fisher-Snedecor (F=1, 5% de probabilidade)

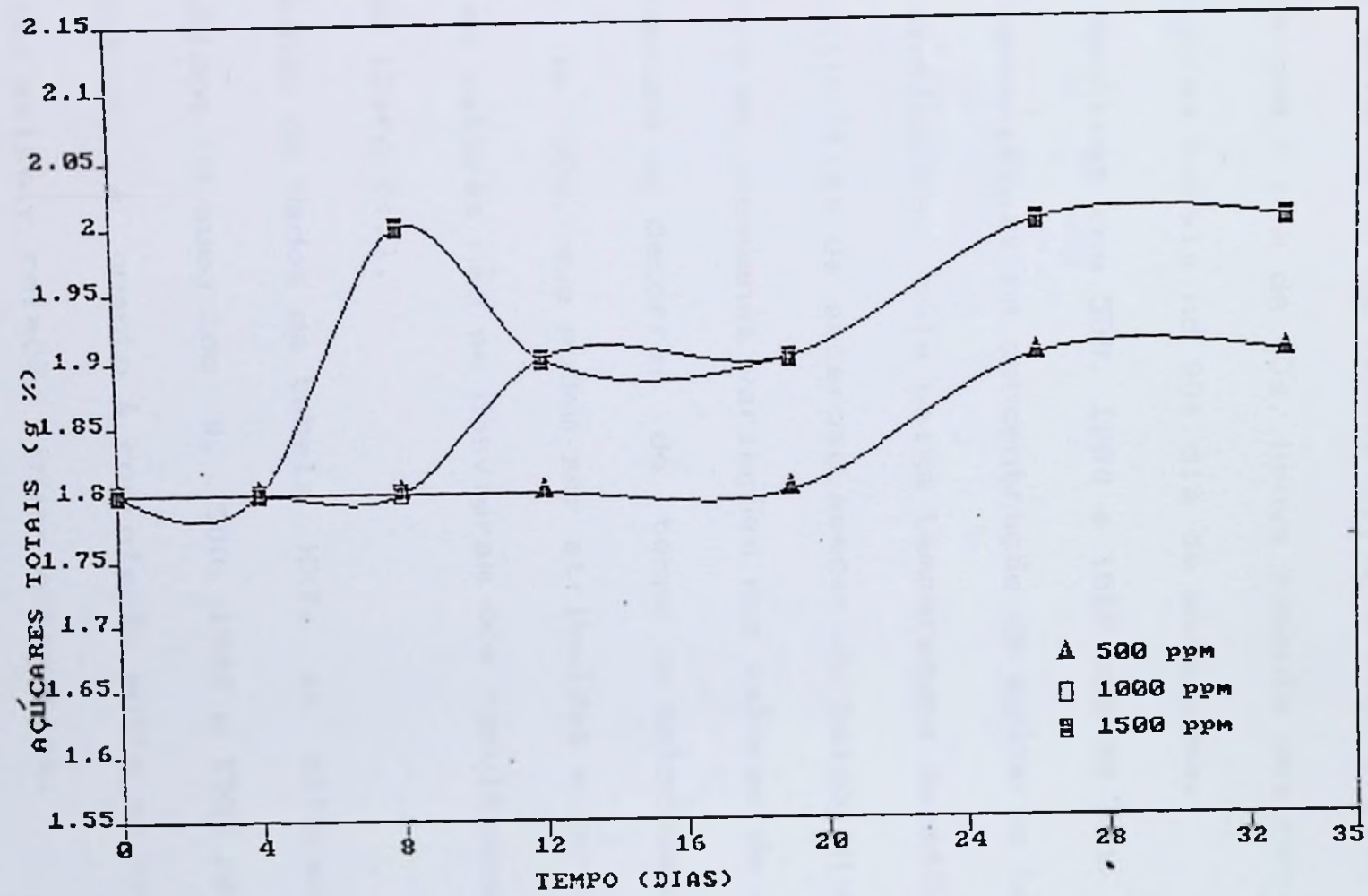
R = Coeficiente de correlação

Não sig. = Não há essencialmente, diferença importante entre os resultados obtidos

Sig. = Há uma diferença significativa entre eles

∃ = Existe correlação linear

FIGURA 10 - AÇÚCARES TOTAIS A 30 GRAUS CELSIUS



As análises de açúcares totais, redutores e não redutores do suco simples de limão, conservado à 5°C, estão mostrados nas tabelas XVIII, XIX e XX e figura 11.

Pela observação da tabela XVIII e figura 11, verifica-se que, na amostra com 0 ppm de SO₂, houve somente uma pequena redução do teor de açúcares totais no 90º dia de estocagem.

Nas amostras com 500, 1000 e 1500 ppm de SO₂, não ocorreram variações apreciáveis na concentração de açúcares totais.

Provavelmente, pela baixa temperatura de estocagem, não foi observada hidrólise da sacarose, apesar do baixo pH do suco.

Ocorreram pequenas variações nos valores de açúcares redutores e sacarose no decorrer do tempo de estocagem em todas as concentrações de SO₂, que podem ser atribuídas a erro de análise. No entanto, estes valores não se desviaram dos resultados do primeiro dia de análise (Zero dia).

Segundo os dados da tabela XXI, as diferenças entre os resultados obtidos no suco com 0, 500, 1000 e 1500 ppm de SO₂ não são significativas, e quanto à correlação entre as concentrações, verifica-se não existir relação linear entre elas.

TABELA XVIII -- TEOR DE AÇÚCARES TOTAIS (g%) NO SUCO ESTOCADO À 5°C.

Tempo de es- toccagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)			
	0	500	1000	1500
0	1,8	1,8	1,8	1,8
15	1,8	1,8	1,8	1,8
30	1,8	1,8	1,8	2,0
45	1,9	1,8	1,8	1,9
60	1,9	1,8	1,8	1,9
75	1,8	1,8	1,8	1,9
90	1,6	1,8	1,8	1,9

TABELA XIX - TEOR DE AÇÚCARES REDUTORES (g%) NO SUCO ESTOCADO À 5°C.

Tempo de es- toccagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)			
	0	500	1000	1500
0	1,3 <u>+0,1</u>	1,3 <u>+0,1</u>	1,3 <u>+0,1</u>	1,3 <u>+0,1</u>
15	1,4 <u>+0,0</u>	1,4 <u>+0,0</u>	1,4 <u>+0,0</u>	1,4 <u>+0,0</u>
30	1,3 <u>+0,0</u>	1,3 <u>+0,0</u>	1,3 <u>+0,0</u>	1,5 <u>+0,0</u>
45	1,4 <u>+0,0</u>	1,3 <u>+0,1</u>	1,3 <u>+0,0</u>	1,4 <u>+0,0</u>
60	1,4 <u>+0,0</u>	1,3 <u>+0,0</u>	1,3 <u>+0,0</u>	1,4 <u>+0,0</u>
75	1,4 <u>+0,1</u>	1,3 <u>+0,1</u>	1,3 <u>+0,1</u>	1,4 <u>+0,1</u>
90	1,4 <u>+0,0</u>	1,3 <u>+0,1</u>	1,3 <u>+0,1</u>	1,4 <u>+0,0</u>

ABELA XX - TEOR DE SACAROSE (g%) NO SUCO ESTOCADO À 5°C.

Tempo de estocagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)			
	0	500	1000	1500
0	0,5 <u>+0,1</u>	0,5 <u>+0,1</u>	0,5 <u>+0,1</u>	0,5 <u>+0,1</u>
15	0,4 <u>+0,0</u>	0,4 <u>+0,1</u>	0,4 <u>+0,1</u>	0,4 <u>+0,1</u>
30	0,5 <u>+0,0</u>	0,5 <u>+0,0</u>	0,5 <u>+0,0</u>	0,5 <u>+0,0</u>
45	0,5 <u>+0,0</u>	0,5 <u>+0,0</u>	0,5 <u>+0,0</u>	0,5 <u>+0,0</u>
60	0,5 <u>+0,0</u>	0,5 <u>+0,0</u>	0,5 <u>+0,0</u>	0,5 <u>+0,0</u>
75	0,4 <u>+0,1</u>	0,5 <u>+0,1</u>	0,5 <u>+0,0</u>	0,5 <u>+0,0</u>
90	0,2 <u>+0,0</u>	0,5 <u>+0,0</u>	0,5 <u>+0,0</u>	0,5 <u>+0,0</u>

TABELA XXI - ESTATÍSTICA DOS DADOS DA TABELA XVIII.

SO ₂ (ppm)	T	R	F
0	-0,935	-0,386	0,874
500	-	-	0,000 ($\alpha=0$)
1000	-	-	- ($\alpha=0$)
1500	1,118	0,447	1,250
0	Não sig.	Não $\exists$	Não sig.
500	-	-	Não sig.
1000	-	-	-
1500	Não sig.	Não $\exists$	Não sig.

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES

SO ₂ (ppm)	0	500	1000	1500
0	1	0,44	-	0,00
500	0,44	1	-	0,54
1000	-	-	1	-

T = Distribuição de Student ($t_{0,95}$)

F = Distribuição Fisher-Snedecor (F=1, 5% de probabilidade)

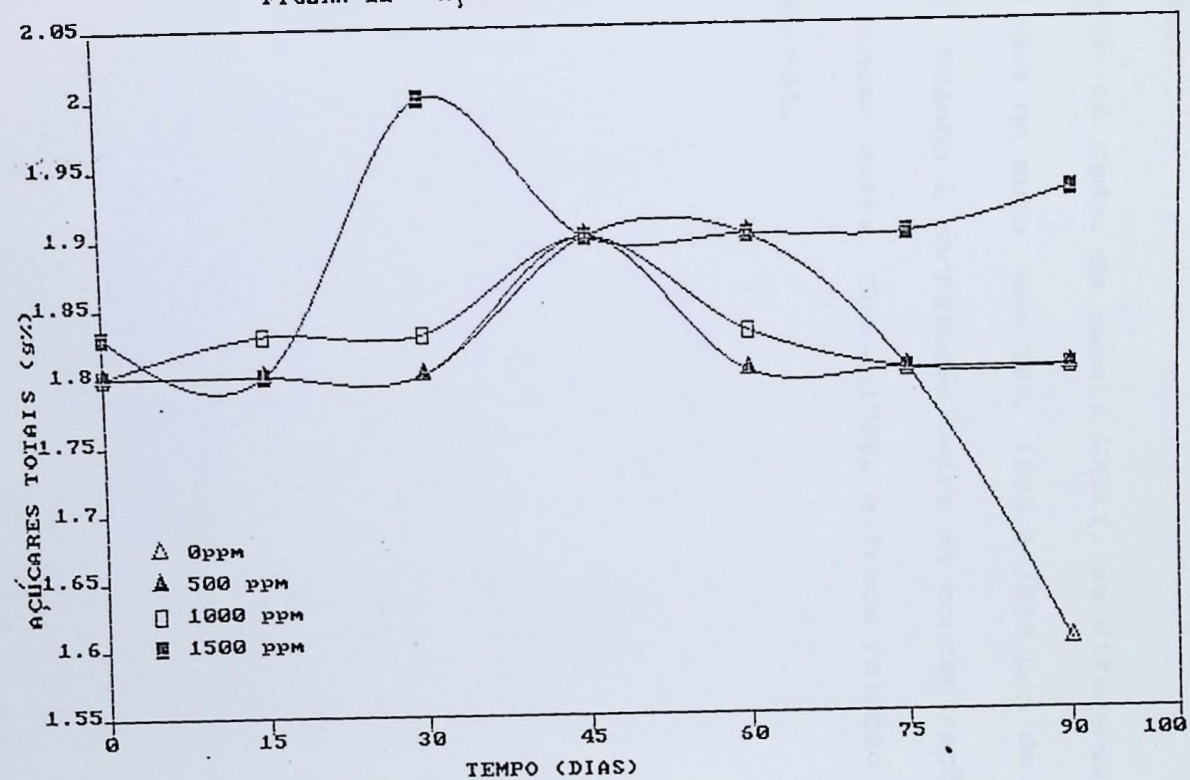
R = Coeficiente de correlação

Não sig. = Não há essencialmente, diferença importante entre os resultados obtidos

Sig. = Há uma diferença significativa entre eles

$\exists$ = Existe correlação linear

FIGURA 11 - AÇÚCARES TOTAIS A 5 GRAUS CELSIUS



1.4 - pH.

Observando-se a tabela XXII e figura 12, pode-se notar que não ocorreram mudanças consideráveis nos valores de pH em todas as concentrações.

Segundo os dados da tabela XXIII, as diferenças entre os resultados obtidos no suco com 500, 1000 e 1500 ppm de SO_2 não são significativos. Quanto à correlação entre as concentrações pode-se notar relação linear entre 500 e 1500, e fraca relação entre 500 e 1000, e 1000 e 1500.

TABELA XXII - pH NO SUCO ESTOCADO À 30°C.

Tempo de estocagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)			
	0	500	1000	1500
0	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>
4	-	2,6 <u>+0,1</u>	2,6 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>
8	-	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>
12	-	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>
19	-	2,5 <u>+0,0</u>	2,4 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>
26	-	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>
33	-	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>

TABELA XXIII - ESTATÍSTICA DOS DADOS DA TABELA XXII

SO ₂ (ppm)	T	R	F
500	-0,943	-0,388	0,889
1000	-0,865	-0,361	0,749
1500	-0,943	-0,388	0,889
500	Não sig.	Não ∃	Não sig.
1000	Não sig.	Não ∃	Não sig.
1500	Não sig.	Não ∃	Não sig.

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES

SO ₂ (ppm)	500	1000	1500
500	1	0,76	1,00
1000	0,76	1	0,76

T = Distribuição de Student ($t_{0,95}$)

F = Distribuição Fisher-Snedecor (F=1, 5% de probabilidade)

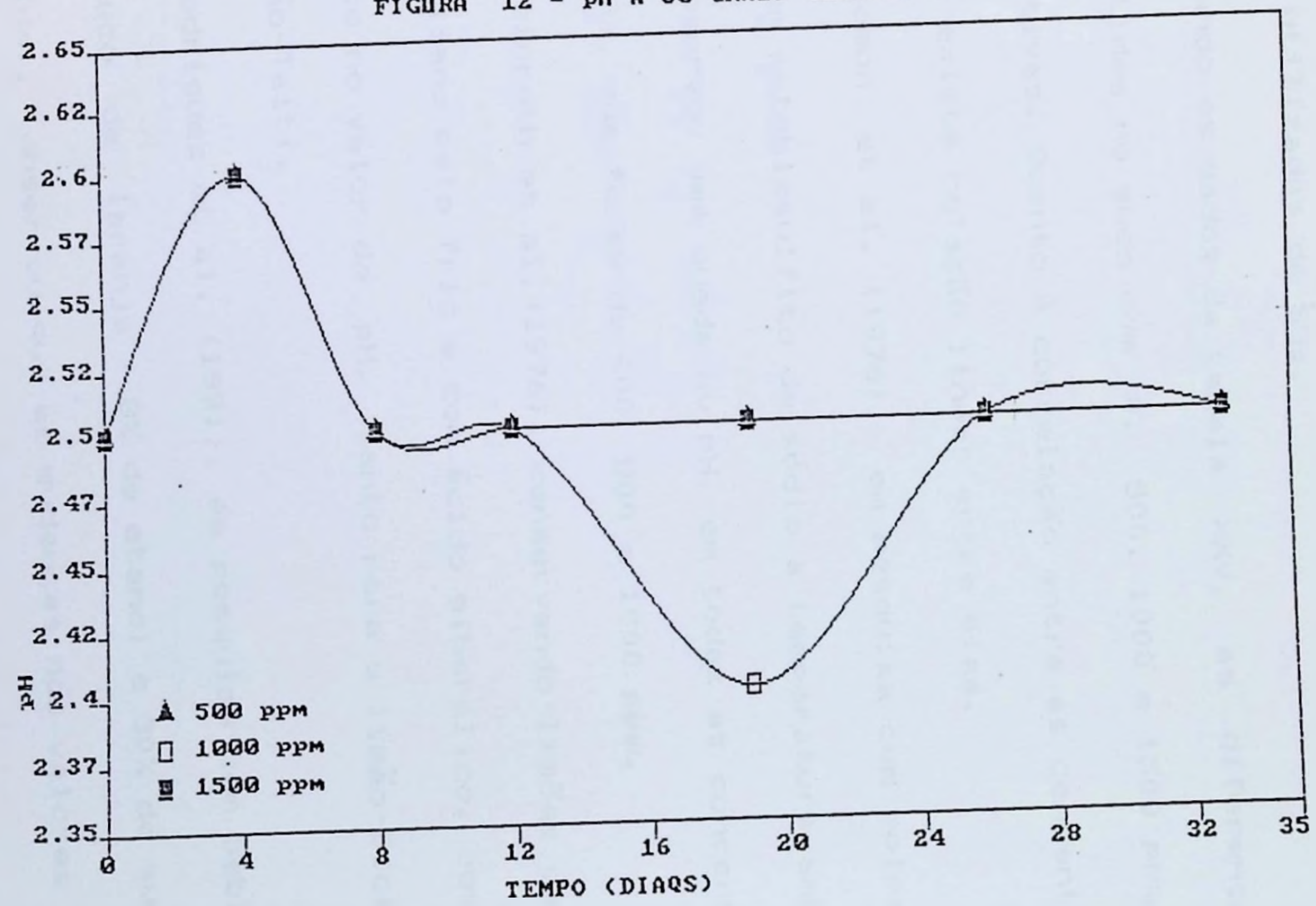
R = Coeficiente de correlação

sig. = Não há essencialmente, diferença importante entre os resultados obtidos

Sig. = Há uma diferença significativa entre eles

∃ = Existe correlação linear

FIGURA 12 - pH A 30 GRAUS CELSIUS



Os resultados referentes ao pH no suco estocado à 5°C, estão mostrados na tabela XXIV e figura 13, e podem ser observadas pequenas variações no decorrer do tempo de estocagem em todas as concentrações utilizadas de SO₂.

Segundo os dados da tabela XXV, as diferenças entre os resultados obtidos no suco com 0, 500, 1000 e 1500 ppm de SO₂ não são significativas. Quanto à correlação entre as concentrações, verifica-se que existe relação linear entre elas.

Salomon et al. (1976), em pesquisa com polpa de goiaba conservada com metabissulfito de sódio a temperatura ambiente por 180 dias, observou uma queda do pH, em todas as concentrações utilizadas de SO₂, que foram de 600, 800 e 1000 ppm.

Bleinroth et al. (1976), conservando limões das variedades Taiti e Siciliano pelo frio e com ácido giberélico, observou um pequeno aumento no valor do pH, tanto para o limão-Siciliano quanto para o limão-Taiti.

Rodriguez et al. (1991), em pesquisa com bebida alcoólica feita com suco de laranja (8% de etanol e 30% de suco de laranja reconstituído), observou que as mudanças nos valores de pH não foram significativas, quando as bebidas foram estocadas à 4, 25 e 40°C, por 14 semanas.

TABELA XXIV - PH DO SUCO ESTOCADO À 5°C.

Tempo de es- toccagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)			
	0	500	1000	1500
0	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>
15	2,6 <u>+0,0</u>	2,6 <u>+0,0</u>	2,6 <u>+0,0</u>	2,7 <u>+0,0</u>
30	2,4 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>
45	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>
60	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>
75	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>	2,5 <u>+0,0</u>
90	2,6 <u>+0,0</u>	2,6 <u>+0,0</u>	2,6 <u>+0,0</u>	2,6 <u>+0,0</u>

TABELA XXV - ESTATÍSTICA DOS DADOS DA TABELA XXIV.

SO ₂ (ppm)	T	R	F
0	0,513	0,224	0,263
500	0,358	0,158	0,128
1000	0,358	0,158	0,128
1500	-0,220	-0,098	0,049
0	Não sig.	Não ∃	Não sig.
500	Não sig.	Não ∃	Não sig.
1000	Não sig.	Não ∃	Não sig.
1500	Não sig.	Não ∃	Não sig.

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES

SO ₂ (ppm)	0	500	1000	1500
0	1	0,85	0,85	0,79
500	0,85	1	1,00	0,93
1000	0,85	1,00	1	0,93

T = Distribuição de Student ($t_{0,95}$)

F = Distribuição Fisher-Snedecor (F=1, 5% de probabilidade)

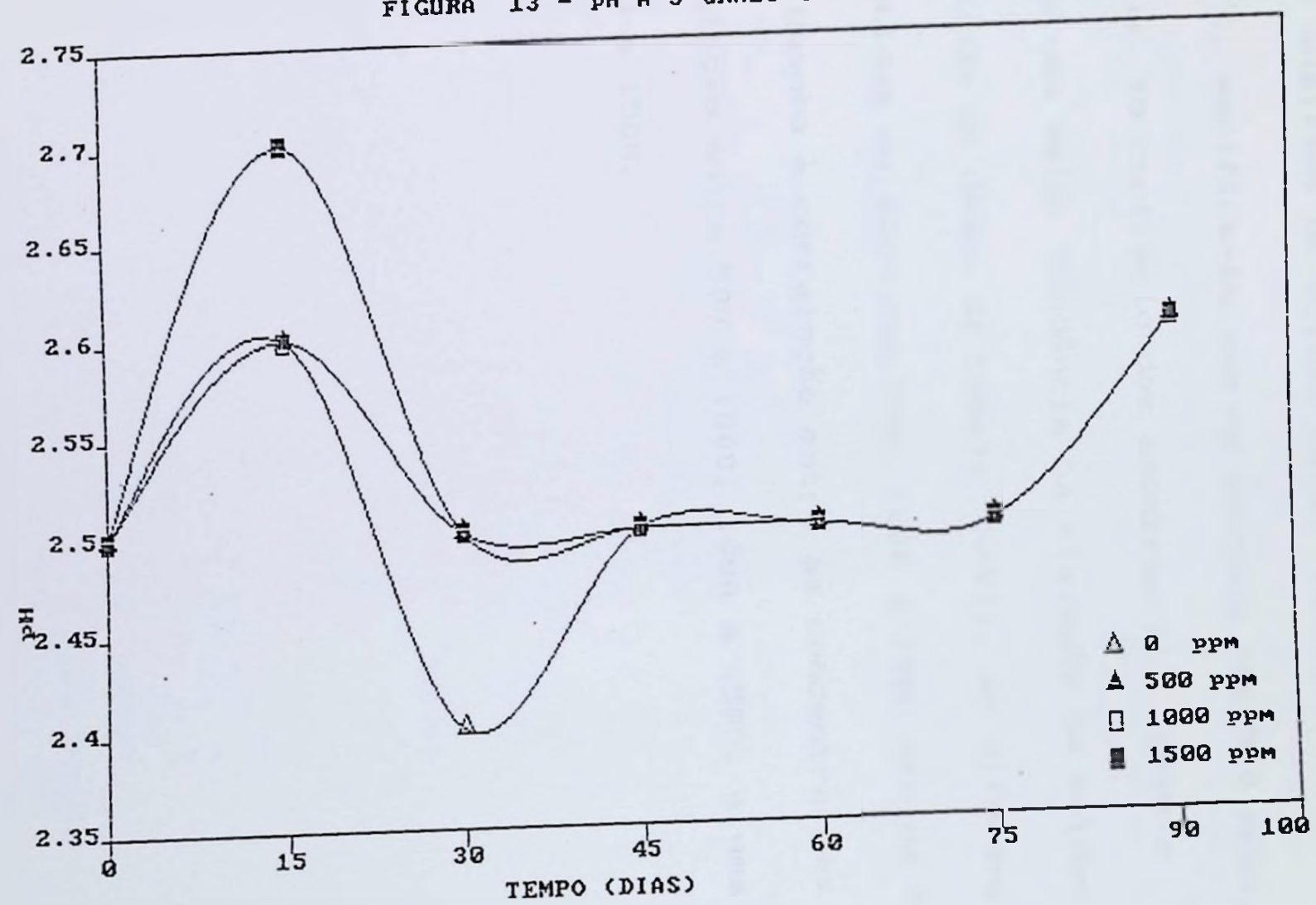
R = Coeficiente de correlação

Não sig. = Não há essencialmente, diferença importante entre os resultados obtidos

Sig. = Há uma diferença significativa entre eles

∃ = Existe correlação linear

FIGURA 13 - pH A 5 GRAUS CELSIUS



4.1.5 - ACIDEZ TOTAL

Observando-se a tabela XXVI e figura 14, que mostram os resultados das análises de acidez total no suco simples de limão estocado à 30°C, verifica-se que na amostra com 500 ppm, ocorreu um acréscimo ténue, ao contrário das amostras com 1000 e 1500 ppm de SO₂ onde houve uma maior tendência na elevação da acidez.

Segundo os dados da tabela XXVII, as diferenças entre os resultados obtidos no suco com 500, 1000 e 1500 ppm de SO₂ são significativas. Quanto à correlação entre as concentrações nota-se que existe uma relação entre 500 e 1000, 1000 e 1500, e uma fraca relação entre 500 e 1500.

TABELA XXVI - ACIDEZ TOTAL (g/100g em ácido cítrico anidro) NO
SUCO ESTOCADO À 30°C.

Tempo de es- toccagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)			
	0	500	1000	1500
0	4,50 <u>+0,48</u>	4,44 <u>+0,65</u>	4,49 <u>+0,05</u>	4,68 <u>+0,01</u>
4	-	4,38 <u>+0,02</u>	4,38 <u>+0,02</u>	4,77 <u>+0,10</u>
8	-	4,45 <u>+0,01</u>	4,59 <u>+0,01</u>	4,82 <u>+0,02</u>
12	-	4,47 <u>+0,01</u>	4,62 <u>+0,02</u>	4,87 <u>+0,02</u>
19	-	4,49 <u>+0,01</u>	4,64 <u>+0,01</u>	4,88 <u>+0,03</u>
26	-	4,51 <u>+0,01</u>	4,73 <u>+0,01</u>	4,90 <u>+0,03</u>
33	-	4,53 <u>+0,02</u>	4,70 <u>+0,00</u>	4,89 <u>+0,02</u>

TABELA XXVII - ESTATÍSTICA DOS DADOS DA TABELA XXVI.

SO ₂ (PPM)	T	R	F
500	4,202	0,883	17,655
1000	3,591	0,849	12,895
1500	3,580	0,848	12,818
500	Sig.	∃	Sig.
1000	Sig.	∃	Sig.
1500	Sig.	∃	Sig.

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES

SO ₂ (PPM)	500	1000	1500
500	1	0,96	0,73
1000	0,96	1	0,81

T = Distribuição de Student (to, 95)

F = Distribuição Fisher-Snedecor (F=1, 5% de probabilidade)

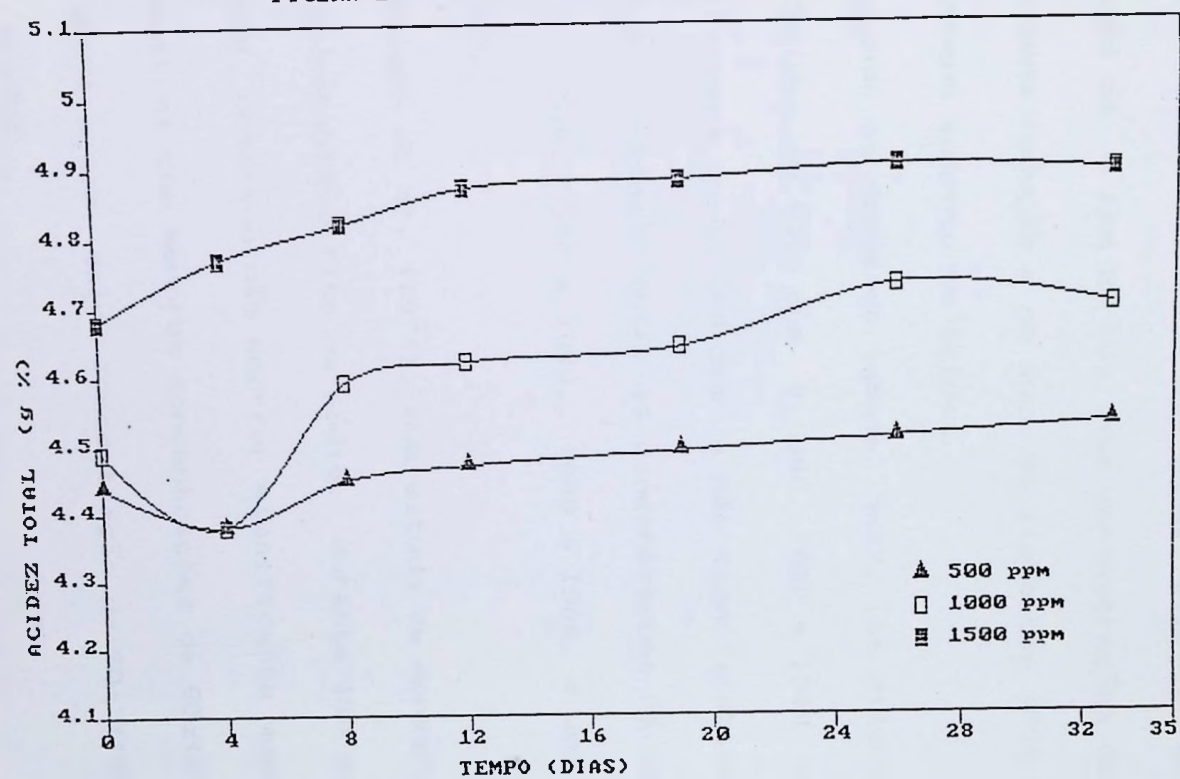
R = Coeficiente de correlação

Não sig. = Não há essencialmente, diferença importante entre os resultados obtidos

Sig. = Há uma diferença significativa entre eles

∃ = Existe correlação linear

FIGURA 14 - ACIDEZ TOTAL A 38 GRAUS CELSIUS



Os resultados da análise de acidez total no suco estocado à 5°C, estão apresentados na tabela XXVIII e figura 15.

O produto estocado nestas condições (tabela XXVIII e figura 15) mostra pela observação dos dados, elevação da acidez total na concentração de 0 ppm de SO₂. Nas concentrações de 500 e 1000 ppm houve pequena redução e no suco de limão com 1500 ppm de SO₂ ocorreu um pequeno aumento da acidez.

Segundo os dados da tabela XXIX, as diferenças entre os resultados obtidos no suco com 0, 500, 1000 e 1500 ppm de SO₂ são significativas para 0 e 500 ppm e não significativas para as demais. Quanto à correlação entre as concentrações há uma relação linear entre 0 e 500, 500 e 1000, 1000 e 1500, e uma fraca relação entre 0 e 1000.

Salomon et al. (1976), num estudo de conservação de polpa de goiaba com metabissulfito de sódio, durante 180 dias a temperatura ambiente, observou não ocorrer significante mudança na acidez total nas amostras com menores concentrações de SO₂ (600 e 800 ppm); somente na amostra com maior concentração de SO₂ (1000 ppm) houve aumento da acidez.

Bleinroth et al. (1976), conservando limões das variedades Taiti e Siciliano pelo frio e com ácido giberélico, verificou uma ligeira diminuição na acidez total, tanto para o limão-Siciliano

como para o limão-Taiti.

Rodriguez et al. (1991), em pesquisa com bebida alcoólica feita com suco de laranja (8% de etanol e 30% de suco de laranja reconstituído), observou que não ocorreram mudanças significativas na acidez total da bebida, quando esta foi estocada à 4, 25 e 40°C, por 14 semanas.

TABELA XXVIII - ACIDEZ TOTAL (g/100g em ácido cítrico anidro) NO
SUCO ESTOCADO À 5°C.

Tempo de es- toccagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)			
	0	500	1000	1500
0	4,50 <u>+0,48</u>	4,44 <u>+0,65</u>	4,49 <u>+0,05</u>	4,68 <u>+0,01</u>
15	4,70 <u>+0,02</u>	4,40 <u>+0,01</u>	4,35 <u>+0,02</u>	4,88 <u>+0,02</u>
30	4,53 <u>+0,01</u>	4,40 <u>+0,01</u>	4,36 <u>+0,03</u>	4,88 <u>+0,01</u>
45	4,80 <u>+0,04</u>	4,39 <u>+0,01</u>	4,34 <u>+0,02</u>	4,86 <u>+0,02</u>
60	4,68 <u>+0,01</u>	4,37 <u>+0,01</u>	4,38 <u>+0,02</u>	4,90 <u>+0,01</u>
75	4,96 <u>+0,01</u>	4,36 <u>+0,01</u>	4,32 <u>+0,02</u>	4,86 <u>+0,03</u>
90	4,97 <u>+0,02</u>	4,36 <u>+0,01</u>	4,32 <u>+0,00</u>	4,87 <u>+0,03</u>

TABELA XXIX - ESTATÍSTICA DOS DADOS DA TABELA XXVIII.

SO ₂ (ppm)	T	R	F
0	3,680	0,855	13,540
500	-6,545	-0,946	42,832
1000	-2,328	-0,721	5,419
1500	1,259	0,491	1,585
0	Sig.	∃	Sig.
500	Sig.	∃	Sig.
1000	Não sig.	Não ∃	Não sig.
1500	Não sig.	Não ∃	Não sig.

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES

SO ₂ (ppm)	0	500	1000	1500
0	1	-0,83	-0,77	0,45
500	-0,83	1	0,84	-0,65
1000	-0,77	0,84	1	-0,83

T = Distribuição de Student ($t_{0,95}$)

F = Distribuição Fisher-Snedecor (F=1, 5% de probabilidade)

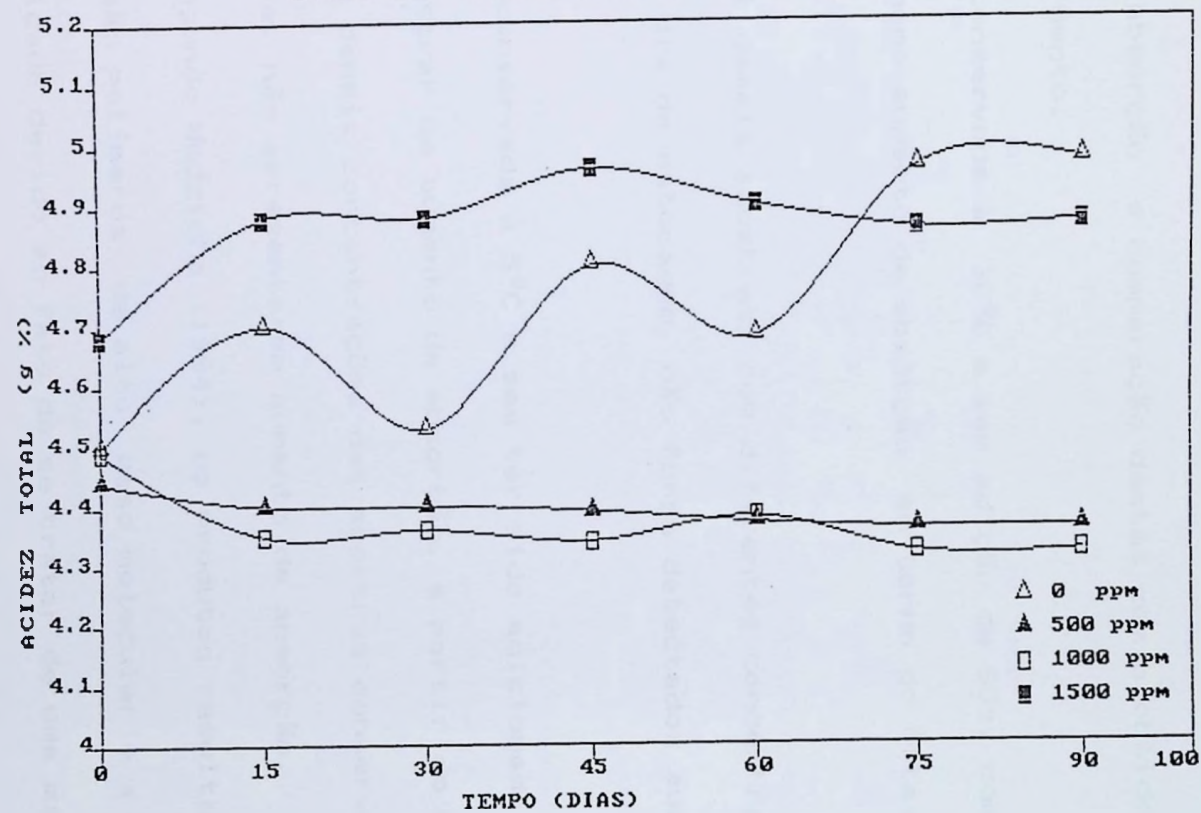
R = Coeficiente de correlação

Não sig. = Não há essencialmente, diferença importante entre os resultados obtidos

Sig. = Há uma diferença significativa entre eles

∃ = Existe correlação linear

FIGURA 15 - ACIDEZ TOTAL A 5 GRAUS CELSIUS



4.1.6 - Avaliação da Cor

A avaliação da mudança de cor nas amostras, nas diversas condições de estocagem, foi realizada através da varredura de seus espectros de absorção e comparação destes com o obtido no primeiro dia do experimento.

- A amostra conservada à 30°C e sem adição de SO₂, começou a apresentar pequeno aumento de absorção, em torno do oitavo dia de estocagem.

Nas demais amostras, com diferentes concentrações de SO₂, até o 33º dia de estocagem, não foram detectados aumentos de absorção.

- A amostra conservada à 5°C e sem ter sido adicionada de SO₂, começou a mostrar um aumento de absorção, a partir do 60º dia.

As demais concentrações das amostras conservadas a esta temperatura, não apresentaram aumento de absorção.

Segundo Wedzicha (1984), os produtos resultantes do escurecimento são polímeros de alto peso molecular e a medida de sua cor é complicada devido ao fato de se tratar de uma mistura de produtos heterogêneos, em que cada componente possui a possibilidade de absorver em diferentes comprimentos de onda.

4.1.7 - ÁCIDO ASCÓRBICO

Os resultados obtidos na análise de ácido ascórbico no suco simples de limão estocado à 30°C, estão mostrados na tabela XXX e figura 16.

Os dados (tabela XXX) indicam que, conforme o esperado, ocorreu perda de ácido ascórbico com a estocagem, devido principalmente à temperatura. A perda de ácido ascórbico também pode ser atribuída em parte à incorporação de ar ao produto, durante a adição e agitação para homogeneização do aditivo, incrementado ainda pela alta temperatura de estocagem.

A perda de ácido ascórbico foi de 79% na amostra com 500 ppm de SO₂, de 81% com 1000 ppm e 71% com 1500 ppm, indicando assim que uma concentração maior de SO₂ não acarreta maior proteção ao produto.

Segundo os dados da tabela XXX, as diferenças entre os resultados obtidos no suco com 500, 1000 e 1500 ppm de SO₂ são significativas. Quanto à correlação entre as concentrações pode-se notar que existe relação linear entre elas.

Segundo Nagy (1980), a perda de vitamina C em produtos cítricos é devida principalmente a dois fatores: temperatura e tempo de estocagem. A incorporação de ar no suco durante extração, acabamento, blending e embalagem, também causa perda de vitamina C.

É prática industrial corrente, manter o ar no suco em concentrações tão baixas quanto possível. Mesmo após o consumo de oxigênio livre, as reações anaeróbicas predominam e influenciam ainda a destruição da vitamina C, porém em menor proporção. Em estudo com suco de laranja enlatado, o mesmo pesquisador observou que no período inicial (1-2 semanas), houve rápida perda de vitamina C causada pela presença de oxigênio livre. Após o consumo de oxigênio, a vitamina C degradou anaerobicamente a taxas mais baixas do que pelo processo aeróbico.

TABELA XXX - TEOR DE ÁCIDO ASCÓRBICO (ppm) NO SUCO ESTOCADO À 30°C.

Tempo de es- toccagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)			
	0	500	1000	1500
0	17	439	455	475
	<u>+2</u>	<u>+1</u>	<u>+3</u>	<u>+3</u>
4	-	196	306	329
	-	<u>+0</u>	<u>+1</u>	<u>+16</u>
8	-	379	375	428
	-	<u>+8</u>	<u>+1</u>	<u>+1</u>
12	-	272	333	350
	-	<u>+0</u>	<u>+9</u>	<u>+1</u>
19	-	252	294	308
	-	<u>+6</u>	<u>+1</u>	<u>+7</u>
26	-	186	255	268
	-	<u>+0</u>	<u>+6</u>	<u>+7</u>
33	-	91	86	137
	-	<u>+3</u>	<u>+3</u>	<u>+4</u>

TABELA XXXI - ESTATÍSTICA DOS DADOS DA TABELA XXX.

SO ₂ (PPM)	T	R	F
500	-2,869	-0,789	8,233
1000	-4,513	-0,896	20,368
1500	-4,740	-0,904	22,264
500	Sig.	∃	Sig.
1000	Sig.	∃	Sig.
1500	Sig.	∃	Sig.

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES

SO ₂ (PPM)	500	1000	1500
500	1	0,94	0,96
1000	0,94	1	0,99

T = Distribuição de Student (to, 95)

F = Distribuição Fisher-Snedecor (F=1, 5% de probabilidade)

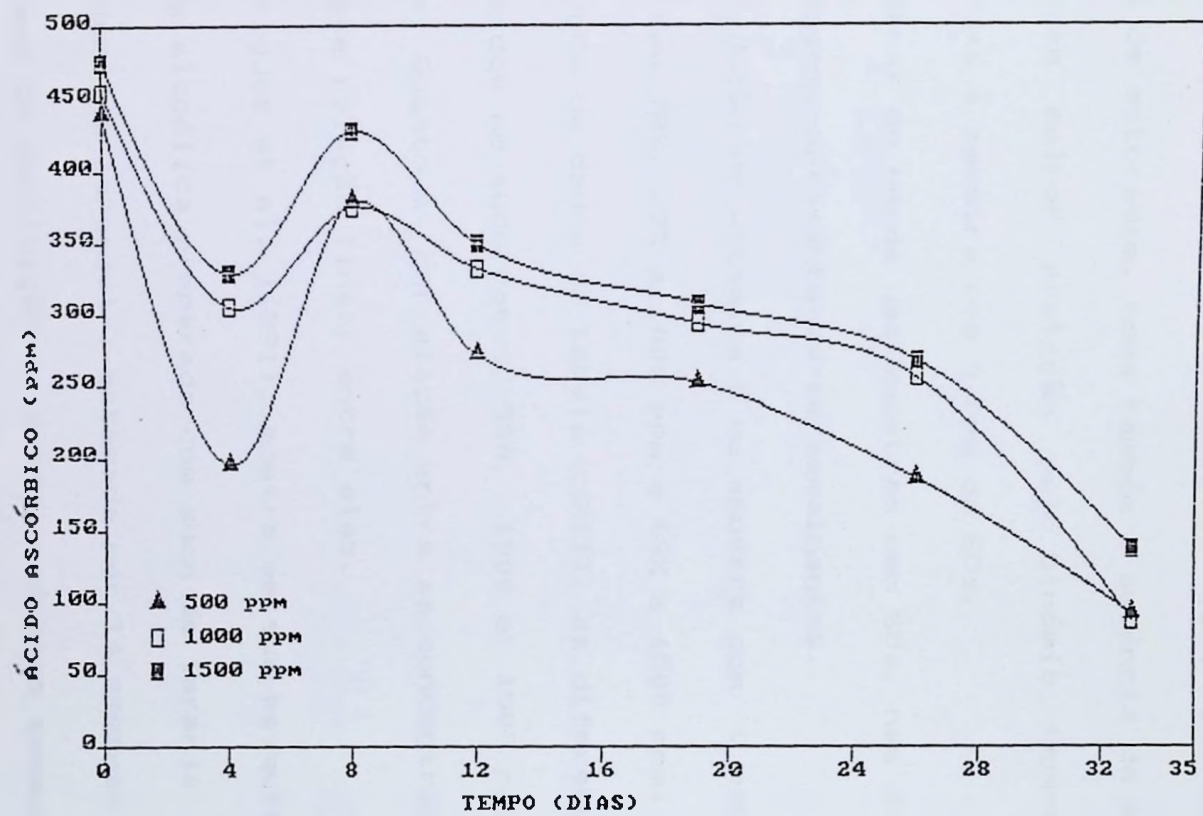
R = Coeficiente de correlação

lão sig. = Não há essencialmente, diferença importante entre os resultados obtidos

Sig. = Há uma diferença significativa entre elas

∃ = Existe correlação linear

FIGURA 16 - ÁCIDO ASCÓRBICO A 30 GRAUS CELSIUS



Os resultados da análise de ácido ascórbico no suco estocado à 5°C, estão mostrados na tabela XXXII e figura 17.

A amostra sem adição de SO₂, apresentou resultados com uma tendência de queda maior que as demais, isto pode ser atribuído ao longo tempo de estocagem, como também à ausência de proteção. As demais obtiveram melhor proteção pelo binômio temperatura-SO₂, quando comparadas à amostra com 0 ppm de SO₂.

As taxas de perda das amostras com SO₂, nas duas temperaturas de estocagem, apresentaram-se semelhantes.

A redução de vitamina C na amostra com 0 ppm de SO₂ foi de 96%, a 500 ppm 78%, 77% a 1000 ppm e 68% a 1500 ppm.

Segundo os dados da tabela XXXIII, as diferenças entre os resultados obtidos no suco com 0, 500, 1000 e 1500 ppm de SO₂ são significativas. Quanto à correlação entre as concentrações pode-se notar que existe relação linear entre elas.

Rodriguez et al. (1991); mostra em sua pesquisa realizada com uma bebida alcoólica preparada com suco de laranja (8% de álcool e 30% de suco de laranja), estocada por 14 semanas a 4, 25 e 40°C, que a taxa de destruição do ácido ascórbico aumenta com o aumento da temperatura. O impacto da temperatura de estocagem sobre a perda de ácido ascórbico parece estar limitada à primeira semana de estocagem. As leituras efetuadas entre a segunda e a quarta semanas

permaneceram relativamente estáveis, aumentando dramaticamente após a quarta semana. As taxas constantes de perda de ácido ascórbico pareceram relativamente similares em todas as temperaturas e condições de oxigenação.

Eaks (1961) constatou que, em limões conservados por 12 semanas à 24°C, a vitamina C é perdida em quantidades consideráveis a 13°C não foi constatada perda de vitamina C, e a 4°C ocorreu perda, porém em taxas menores.

Segundo Nagy (1980), além do tempo de estocagem, oxigênio e temperatura, alguns componentes do suco também influenciam a estabilidade da vitamina C. Dos três mais abundantes açúcares encontrados em sucos cítricos (glicose, frutose e sacarose), a frutose é o que tem sido implicado no aumento da perda de vitamina C. Outros pesquisadores também estudaram e confirmaram o efeito degradativo da frutose sobre o ácido ascórbico. Os hidroxilácidos cítrico e málico estabilizam a vitamina C por quelação prooxidante dos metais, aumentando a acidez do suco.

Salomon et al. (1976), em pesquisa com polpa de goiaba conservada em concentrações de 600, 800 e 1000 ppm de SO₂, à temperatura ambiente, observou acentuada redução do teor de vitamina C, no decorrer dos seis meses de estocagem.

Marcy et al. (1989), estudando o efeito da temperatura em

suco concentrado de laranja e em uma bebida com suco de laranja, observou o declínio altamente significativo do ácido ascórbico nas bebidas, quando estocadas à 15°C, 22°C e 30°C. Durante a estocagem à 4°C, a perda de ácido ascórbico não foi significativa. Depois de 6 meses a perda de ácido ascórbico na bebida de laranja foi de 40% a 4°C e 15°C, e 75% a 22°C e 30°C. No suco concentrado de laranja, após os 6 meses, a perda foi de 13% a 4°C, 20-21% a 15°C, 40% a 22°C e 72% a 30°C.

TABELA XXXII - TEOR DE ÁCIDO ASCÓRBICO (ppm) NO SUCO ESTOCADO À 5°C.

Tempo de es- toccagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)			
	0	500	1000	1500
0	417 +2 —	439 +1 —	455 +3 —	475 +3 —
15	215 +0 —	239 +7 —	265 +8 —	327 +2 —
30	201 +5 —	230 +3 —	248 +8 —	284 +2 —
45	226 +7 —	223 +8 —	266 +7 —	298 +5 —
60	76 +5 —	227 +0 —	207 +2 —	272 +2 —
75	40 +4 —	186 +2 —	148 +3 —	274 +2 —
90	17 +5 —	96 +2 —	103 +4 —	152 +5 —

TABELA XXXIII - ESTATÍSTICA DOS DADOS DA TABELA XXXII.

SO ₂ (ppm)	T	R	F
0	-5,560	-0,928	30,919
500	-3,653	-0,853	13,343
1000	-5,006	-0,913	25,065
1500	-4,071	0,876	16,570
0	Sig.	∃	Sig.
500	Sig.	∃	Sig.
1000	Sig.	∃	Sig.
1500	Sig.	∃	Sig.

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES

SO ₂ (ppm)	0	500	1000	1500
0	1	0,91	0,98	0,91
500	0,91	1	0,97	0,98
1000	0,98	0,97	1	0,96

T = Distribuição de Student ($t_{0,95}$)

F = Distribuição Fisher-Snedecor (F=1, 5% de probabilidade)

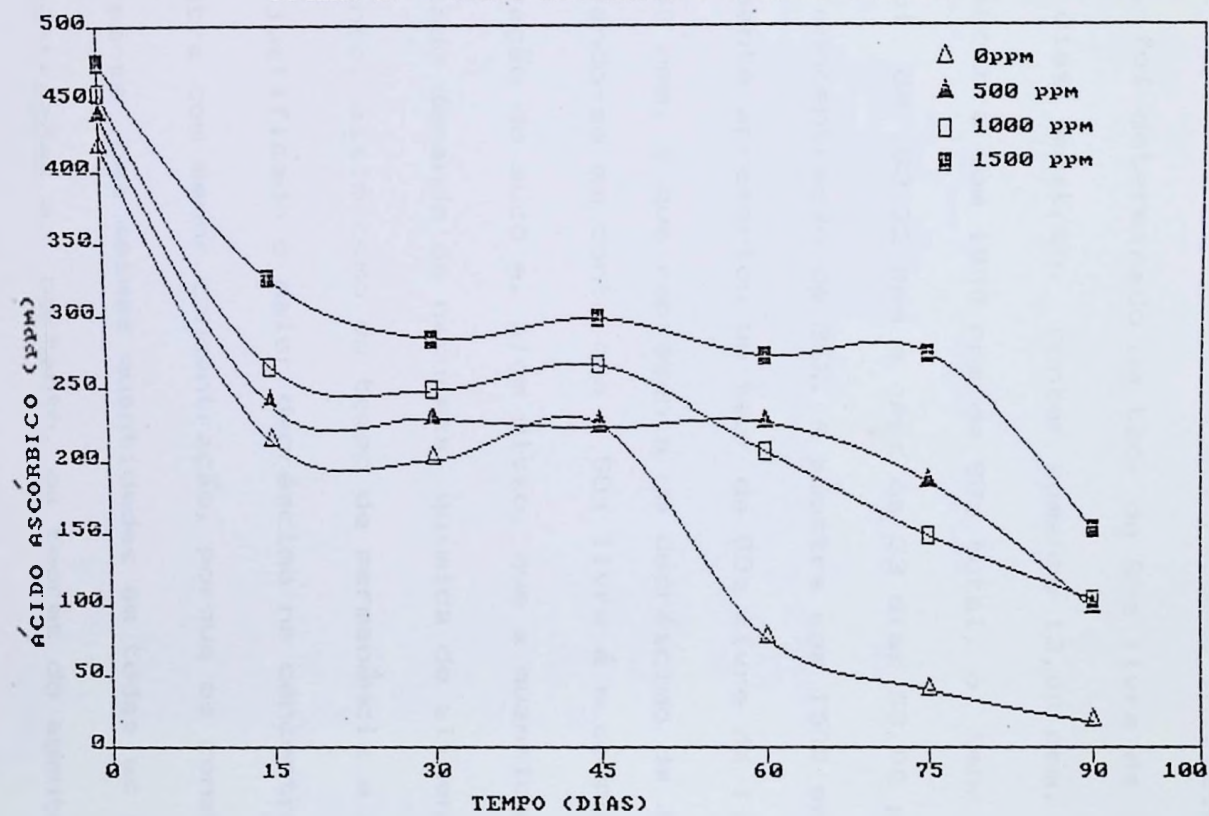
R = Coeficiente de correlação

Não sig. = Não há essencialmente, diferença importante entre os resultados obtidos

Sig. = Há uma diferença significativa entre eles

∃ = Existe correlação linear

FIGURA 17 - ÁCIDO ASCÓRBICO A 5 GRAUS CELSIUS



4.1.8 - ANIDRIDO SULFUROSO LIVRE.

Pela tabela XXXIV e figura 18, que mostram os resultados das análises de SO_2 livre no suco simples de limão estocado à 30°C , pode-se observar que, na amostra que recebeu inicialmente 500 ppm de SO_2 total, foi determinado um teor de SO_2 livre de 35,67 ppm e, após os 33 dias mostrou, conter somente 13,00 ppm, uma queda de 64%. Para a amostra com 1000 ppm de SO_2 total, o teor inicial de SO_2 livre foi de 83,22 ppm e após os 33 dias 53,00 ppm, sofrendo uma baixa na concentração de 36%. A amostra com 1500 ppm de SO_2 total, inicialmente apresentou um teor de SO_2 livre de 118,37 ppm e final de 77,00 ppm, o que representa um decréscimo de 35%.

Levando-se em conta que o SO_2 livre é o componente efetivo na conservação do suco e, além disso, que a quantidade de agente sulfitante usado depende da natureza química do alimento, do tipo de processamento, assim como do tempo de permanência e condições de estocagem, é justificado o maior decréscimo na concentração de SO_2 livre na amostra com menor concentração, porque os constituintes do suco encontram-se nas mesmas quantidades em todas as amostras nas diversas concentrações e, portanto, os teores do agente sulfitante que reagirão serão os mesmos. Considere-se, além disso, as diferenças nas perdas por dificuldades na homogeneização, embalagem, etc.

Segundo os dados da tabela XXXV, as diferenças entre os

resultados obtidos no suco com 500, 1000 e 1500 ppm de SO_2 são significativas para 500 ppm e não são significativas para as demais. Quanto à correlação entre as concentrações existe relação linear entre elas.

Zipper (1974), em pesquisa com suco de laranja e limão, conservado com $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, em temperatura ambiente por 12 meses, verificou que, após o primeiro mes de estocagem, o suco apresentou uma queda drástica no teor de SO_2 livre. Deste, até o quinto mes, a queda foi pequena e gradual, acelerando-se a partir de então.

TABELA XXXIV - TEOR DE SO₂ LIVRE NO SUCO ESTOCADO À 30°C.

Tempo de es- toccagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)		
	500	1000	1500
0	35,67 <u>+0,87</u>	83,22 <u>+0,53</u>	118,37 <u>+2,14</u>
4	28,37 <u>+0,69</u>	64,68 <u>+0,64</u>	95,92 <u>+0,61</u>
8	23,47 <u>+0,30</u>	69,32 <u>+1,08</u>	102,98 <u>+1,22</u>
12	24,03 <u>+0,46</u>	65,75 <u>+1,65</u>	94,82 <u>+1,03</u>
19	28,57 <u>+0,76</u>	84,93 <u>+1,13</u>	123,21 <u>+0,57</u>
26	16,78 <u>+0,36</u>	53,28 <u>+0,31</u>	77,25 <u>+0,87</u>
33	13,00 <u>+0,20</u>	53,00 <u>+0,65</u>	77,00 <u>+0,88</u>

TABELA XXXV - ESTATÍSTICA DOS DADOS DA TABELA XXXIV

SO ₂ (ppm)	T	R	F
500	-3,950	-0,870	15,601
1000	-1,716	-0,609	2,943
1500	-1,786	-0,624	3,190
500	Sig.	∃	Sig.
1000	Não sig.	Não ∃	Não sig.
1500	Não sig.	Não ∃	Não sig.

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES

SO ₂ (ppm)	500	1000	1500
500	1	0,87	0,87
1000	0,87	1	1,00

T = Distribuição de Student ($t_{0,95}$)

F = Distribuição Fisher-Snedecor (F=1, 5% de probabilidade)

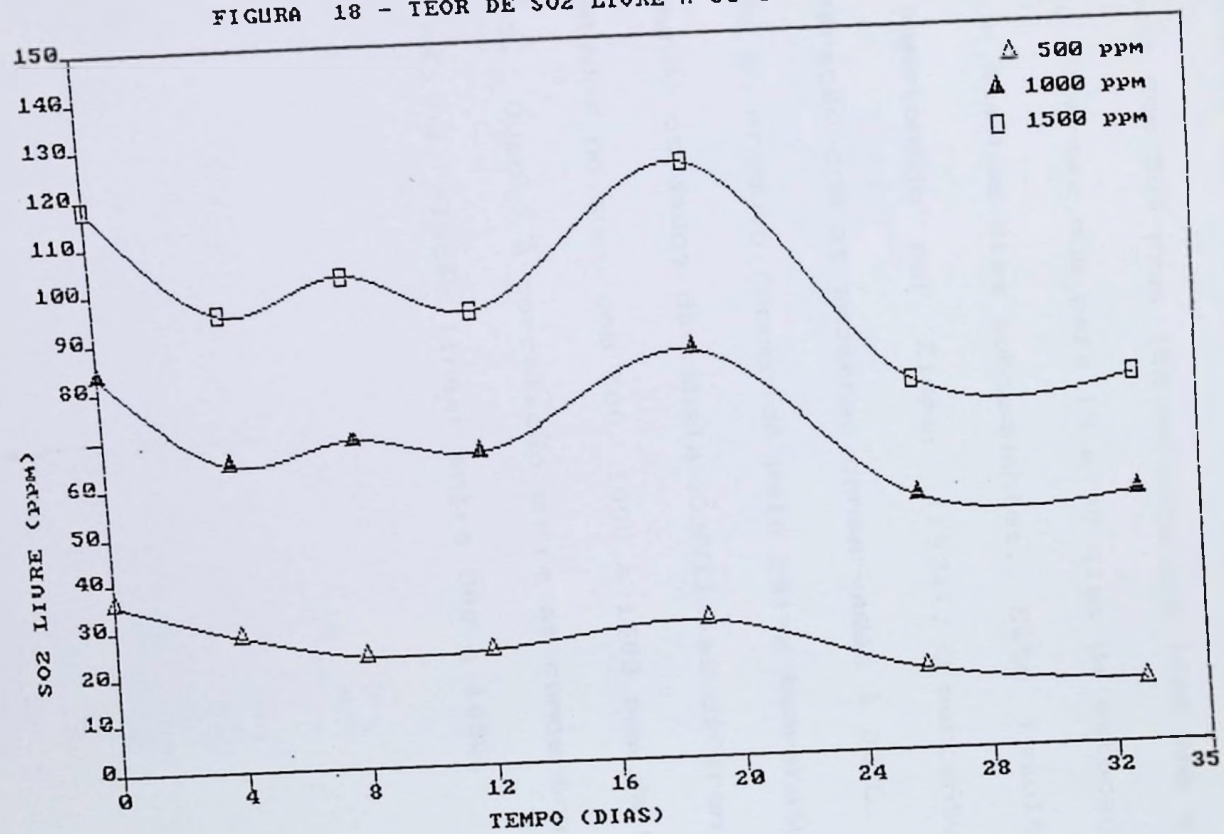
R = Coeficiente de correlação

Não sig. = Não há essencialmente, diferença importante entre os resultados obtidos

Sig. = Há uma diferença significativa entre eles

∃ = Existe correlação linear

FIGURA 18 - TEOR DE SO₂ LIVRE A 30 GRAUS CELSIUS



Observado-se a tabela XXXVI e figura 19, que mostram os resultados das análises de SO_2 livre no suco simples de limão estocado à 5°C , nota-se uma pequena queda nas concentrações de SO_2 livre, 24% no suco com 500 ppm, 15% no suco com 1000 ppm e 7% no suco com 1500 ppm. Nota-se, que para 15 e 30 dias de estocagem, ocorreu uma perda maior que nos dias subsequentes. Este resultado é semelhante ao mencionado por Zipper (1974). O percentual menor de perda em comparação com as amostras conservadas à 30°C , deve-se à maior proteção ao produto fornecida pela baixa temperatura.

Segundo os dados da tabela XXXVII, as diferenças entre os resultados obtidos no suco com 500, 1000 e 1500 ppm de SO_2 não são significativas. Quanto à correlação entre as concentrações verificase, que só não há relação linear entre 500 e 1000.

TABELA XXXVI - TEOR DE SO₂ LIVRE NO SUCO ESTOCADO À 5°C.

Tempo de es- toccagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)		
	500	1000	1500
0	35,67 <u>+0,87</u>	83,22 <u>+0,53</u>	118,37 <u>+2,14</u>
15	28,74 <u>+0,58</u>	63,95 <u>+0,46</u>	88,22 <u>+1,14</u>
30	26,52 <u>+0,12</u>	64,66 <u>+0,59</u>	84,76 <u>+1,04</u>
45	31,45 <u>+0,43</u>	74,68 <u>+0,92</u>	106,42 <u>+1,26</u>
60	29,03 <u>+0,23</u>	74,09 <u>+0,33</u>	111,56 <u>+0,98</u>
75	27,11 <u>+0,10</u>	68,60 <u>+0,49</u>	106,24 <u>+0,79</u>
90	27,00 <u>+0,11</u>	70,75 <u>+0,91</u>	110,54 <u>+0,87</u>

TABELA XXXVII - ESTATÍSTICA DOS DADOS DA TABELA XXVI.

SO ₂ (PPM)	T	R	F
500	-1,839	-0,635	3,383
1000	-0,495	-0,216	0,245
1500	0,560	0,243	0,314
500	Não sig.	Não E	Não sig.
1000	Não sig.	Não E	Não sig.
1500	Não sig.	Não E	Não sig.

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES			
SO ₂ (PPM)	500	1000	1500
500	1	0,86	0,56
1000	0,86	1	0,87

T = Distribuição de Student ($t_{0,95}$)

F = Distribuição Fisher-Snedecor (F=1, 5% de probabilidade)

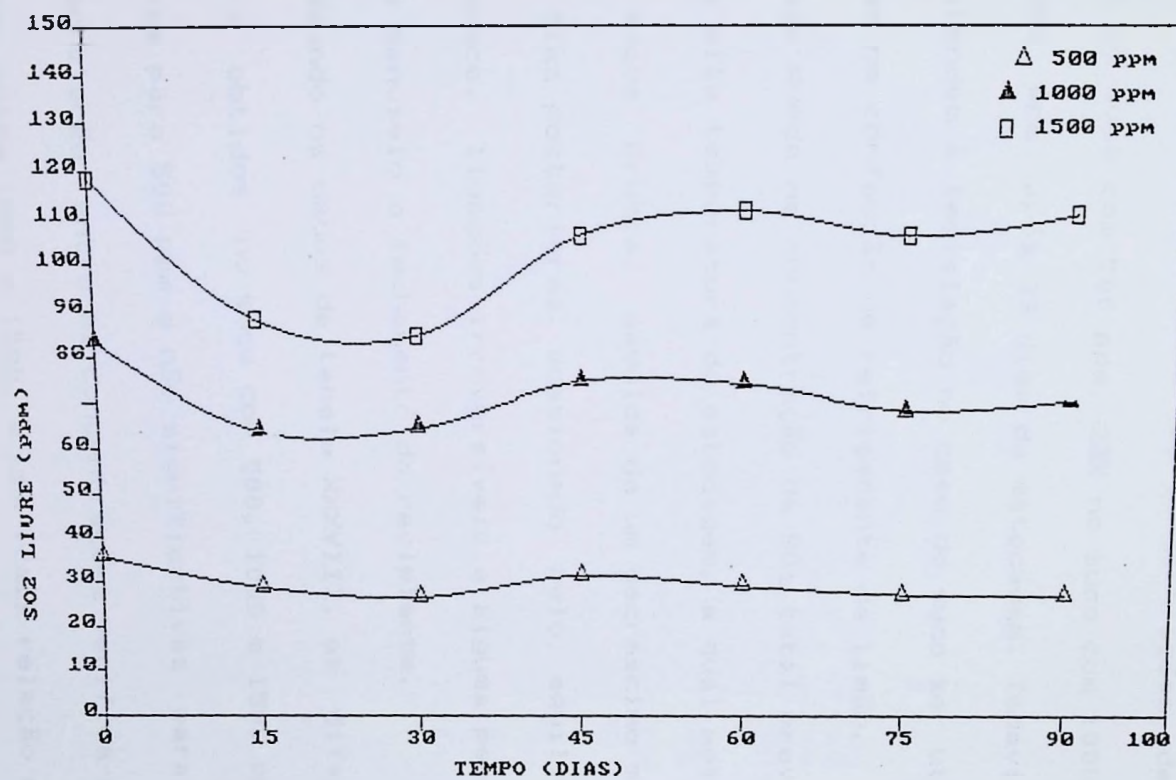
R = Coeficiente de correlação

Não sig. = Não há essencialmente, diferença importante entre os resultados obtidos

Sig. = Há uma diferença significativa entre eles

E = Existe correlação linear

FIGURA 19 - TEOR DE SO2 LIVRE A 5 GRAUS CELSIUS



4.1.9 - ANIDRIDO SULFUROSO TOTAL.

Observando-se a tabela XXXVIII e a figura 20, que mostram os resultados da análise de SO₂ total no suco simples de limão estocado à 30°C, nota-se uma queda nas concentrações de SO₂ total, sendo de 40% no suco com 500 ppm, 23% no suco com 1000 ppm e 21% no suco com 1500 ppm, após 33 dias de estocagem. Todavia, essas concentrações atendem à legislação no caso do suco ser utilizado como matéria prima na confecção de refrigerante de limão.

Essa queda na concentração de SO₂ total provavelmente seria devida à alta temperatura de estocagem, a qual mostrou em princípio, uma queda brusca, seguida de um decréscimo mais lento dos valores nos dias posteriores, ocasionado pelo equilíbrio inicial com o headspace, ligações irreversíveis e alguma perda para a atmosfera pelo manuseio e fechamento do recipiente.

Segundo os dados da tabela XXXVIII, as diferenças entre os resultados obtidos no suco com 500, 1000 e 1500 ppm de SO₂ são significativas para 500 ppm e não significativas para as demais. Quanto à correlação entre as concentrações verifica-se que existe relação linear entre 1000 e 1500, e uma fraca relação entre 500 e 1000, e 500 e 1500.

Salomon et al. (1976), em pesquisa com polpa de goiaba conservada com concentrações de 600, 800 e 1000 ppm de SO₂ à tempe-

ratura ambiente, constatou a ocorrência de gradativa redução do teor de SO_2 no decorrer do tempo de armazenamento. A amostra com 600 ppm, sofreu uma redução de 91%, a de 800 ppm 90% e a de 1000 ppm 86%, após 180 dias de armazenamento.

TABELA XXXVIII - TEOR DE SO₂ TOTAL NO SUCO ESTOCADO À 30°C.

Tempo de es- tocado em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)		
	500	1000	1500
0	487 <u>+3</u>	1103 <u>+16</u>	1562 <u>+24</u>
4	396 <u>+3</u>	824 <u>+7</u>	1152 <u>+9</u>
8	409 <u>+4</u>	990 <u>+2</u>	1341 <u>+26</u>
12	391 <u>+5</u>	981 <u>+8</u>	1381 <u>+3</u>
19	385 <u>+2</u>	951 <u>+2</u>	1326 <u>+7</u>
26	376 <u>+0</u>	937 <u>+5</u>	1259 <u>+29</u>
33	294 <u>+5</u>	854 <u>+4</u>	1235 <u>+1</u>

TABELA XXXIX - ESTATÍSTICA DOS DADOS DA TABELA XXXVIII.

SO ₂ (PPM)	T	R	F
500	-3,990	-0,872	15,917
1000	-1,204	-0,474	1,450
1500	-1,204	-0,456	1,450
500	Sig.	∃	Sig.
1000	Não sig.	Não ∃	Não sig.
1500	Não sig.	Não ∃	Não sig.

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES			
SO ₂ (ppm)	500	1000	1500
500	1	0,77	0,72
1000	0,77	1	0,95

F = Distribuição Fisher-Snedecor (F=1, 5% de probabilidade)

T = Distribuição de Student (to,95)

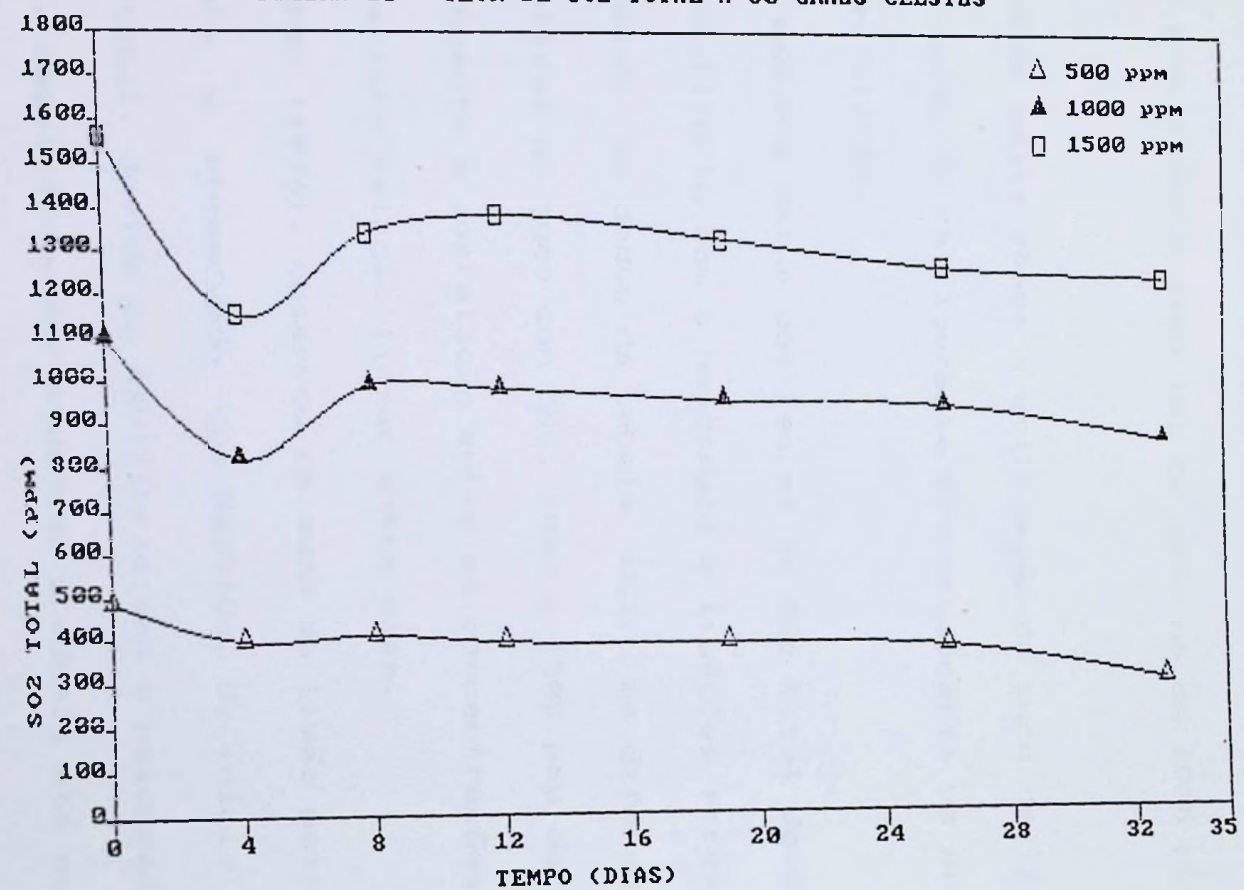
R = Coeficiente de correlação

Não sig. = Não há essencialmente, diferença importante entre os resultados obtidos

Sig. = Há uma diferença significativa entre eles

∃ = Existe correlação linear

FIGURA 20 - TEOR DE SO₂ TOTAL A 30 GRAUS CELSIUS



Observando-se a tabela XL e figura 21, que mostram os resultados da análise de SO_2 total no suco estocado à 5°C , pode-se notar que a queda na concentração de SO_2 total foi gradual. Para o suco com 500 ppm o decréscimo foi de 20%, no de 1000 ppm 17% e 1500 ppm 13%.

Também nesta etapa a utilização do suco de limão como base para a produção de refrigerante proporcionaria um produto que atenderia à legislação.

A pequena baixa dos teores de SO_2 total deveu-se provavelmente ao equilíbrio com o headspace e ligações irreversíveis.

Segundo os dados da tabela XLI, as diferenças entre os resultados obtidos no suco com 500, 1000 e 1500 ppm de SO_2 são significativas. Quanto à correlação entre as concentrações pode-se verificar, que existe relação linear entre elas.

Zipper (1974), observou em suco de limão estocado à temperatura ambiente e preservado com $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, de início uma drástica perda de SO_2 total, devido ao equilíbrio com o headspace e ligações irreversíveis, seguindo-se por mudanças graduais até os 6 meses. Após este período, a taxa de perda aumentou. Efetivamente, Zipper observou que, embora o SO_2 combinado tenha aumentado, houve pouca mudança nos teores de SO_2 total até o 9º mes de experiência.

TABELA XL - TEOR DE SO₂ TOTAL NO SUCO ESTOCADO À 5°C.

Tempo de es- toccagem em dias	Concentração de SO ₂ no suco (ppm)		
	500	1000	1500
0	487 +3 —	1103 +16 —	1562 +24 —
15	480 +9 —	1032 +5 —	1486 +2 —
30	463 +14 —	979 +24 —	1434 +3 —
45	450 +4 —	970 +24 —	1456 +2 —
60	437 +8 —	972 +23 —	1374 +34 —
75	414 +1 —	921 +18 —	1344 +8 —
90	390 +10 —	913 +3 —	1363 +21 —

TABELA XLI - ESTATÍSTICA DOS DADOS DA TABELA XL.

SO ₂ (ppm)	T	R	F
500	-14,003	-0,987	196,914
1000	-6,124	-0,939	37,508
1500	-5,839	-0,934	34,099
500	Sig.	∃	Sig.
1000	Sig.	∃	Sig.
1500	Sig.	∃	Sig.

COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES

SO ₂ (ppm)	500	1000	1500
500	1	1,0	0,89
1000	1,0	1	0,94

T = Distribuição de Student ($t_{0,95}$)

F = Distribuição Fisher-Snedecor (F=1, 5% de probabilidade)

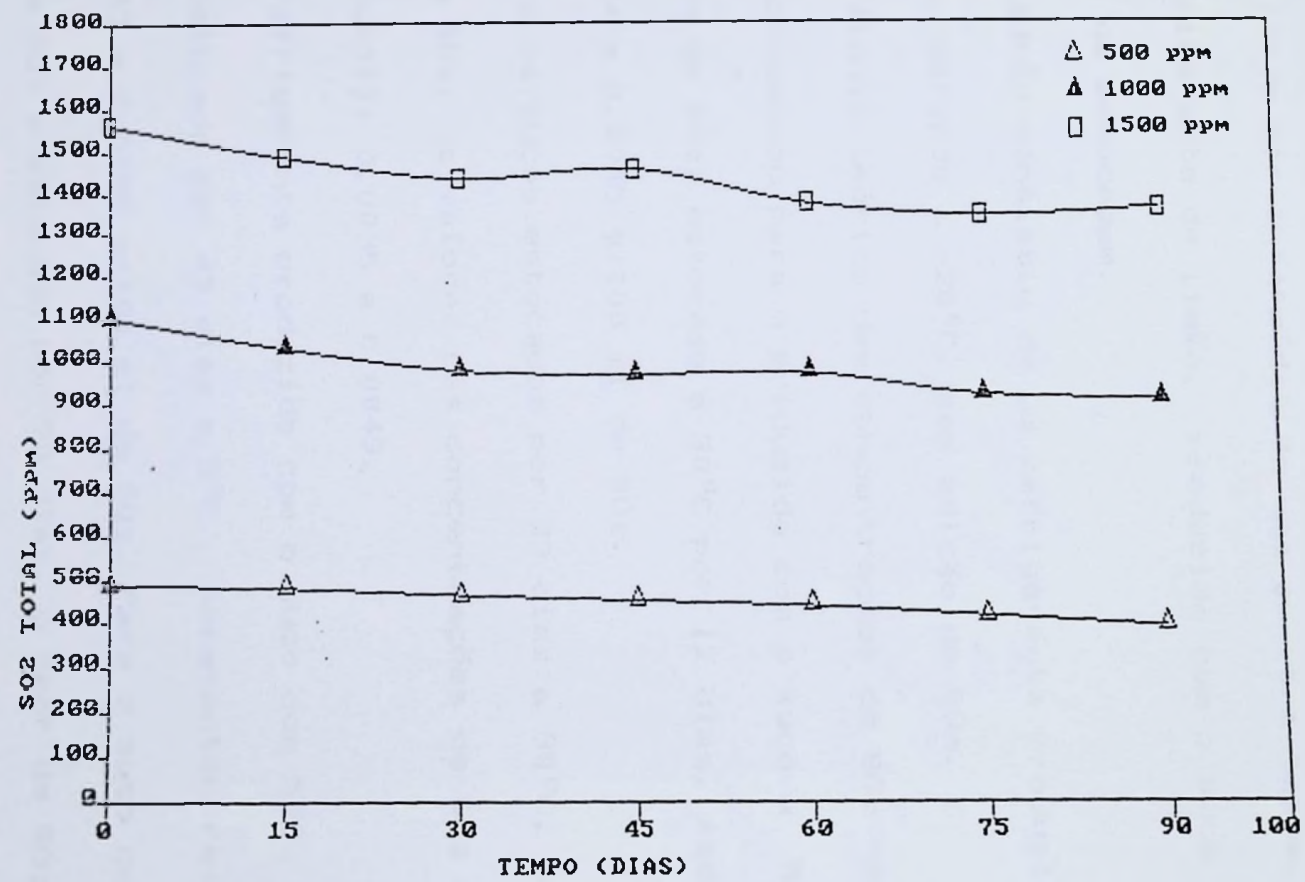
R = coeficiente de correlação

Não sig. = Não há essencialmente, diferença importante entre os resultados obtidos

Sig. = Há uma diferença significativa entre eles

∃ = Existe correlação linear

FIGURA 21 - TEOR DE SO2 TOTAL A 5 GRAUS CELSIUS



4.1.10 - ANÁLISE SENSORIAL.

A avaliação sensorial do suco de limão estocado à 30°C e 5°C, conservado com SO₂ nas concentrações de 0, 500, 1000 e 1500 ppm, foi realizado por intermédio de uma amostra teste, que consistiu de um refrigerante de limão, produzido com o suco nas diferentes condições de estocagem.

O padrão consistiu de um refrigerante produzido com o suco de limão conservado a -20°C, sem adição de SO₂.

O cálculo teórico das concentrações de SO₂ no refrigerante testado, apresentou para o produzido com o suco a 500 ppm, 1000 ppm e 1500 ppm de SO₂, estocado à 30°C por 12 dias, respectivamente 0,0020; 0,0034 e 0,0045 g/100 ml de SO₂.

Para os sucos estocados por 33 dias a 30°C, com 500, 1000 e 1500 ppm de SO₂, os valores das concentrações de SO₂ no refrigerante foram 0,0012; 0,0035 e 0,0049.

O refrigerante produzido com o suco com 500, 1000 e 1500 ppm de SO₂, estocado por 45 dias a 5°C, apresentou respectivamente 0,0019; 0,0043 e 0,0055 g/100 ml de SO₂. Para o suco com 500, 1000 e 1500 ppm de SO₂ e estocado por 90 dias, o teor de SO₂ no refrigerante foi de 0,0017; 0,0040 e 0,0054 g/100 ml.

A diferença entre o padrão (suco de limão conservado a -20°C, sem adição de metabissulfito de sódio) e as demais amostras

com 0 ppm de SO_2 (com diferentes temperaturas e tempo de estocagem), indica não ser significativa.

Ao nível de 500 ppm de concentração de SO_2 , a diferença já era significativa, em todas as condições testadas.

TABELA XLII - AVALIAÇÃO DA AMOSTRA COM 0 ppm DE SO₂.

CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM °C / dias	DIFERENÇA				PREFERÊNCIA			
	NºP	NºA	CONCLUSÃO	G.D.	P	A	S/P	CONCLUSÃO
ZERO	-	-	-	-	-	-	-	-
30°C/12dias	18	9	Insig.	1,78	9	0	0	Sig. @ 1%
30°C/33dias	18	8	Insig.	1,50	4	2	2	Insig.
5°C /45dias	18	9	Insig.	1,67	4	2	3	Insig.
5°C /90dias	18	6	Insig.	1,28	4	1	1	Insig.

TABELA XLIII - AVALIAÇÃO DA AMOSTRA COM 500 ppm DE SO₂.

CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM °C / dias	DIFERENÇA				PREFERÊNCIA			
	NºP	NºA	CONCLUSÃO	G.D.	P	A	S/P	CONCLUSÃO
ZERO	18	15	Sig. >0,1%	2,11	5	7	3	Insig.
30°C/12dias	18	11	Sig. @ 5%	2,72	6	2	3	Insig.
30°C/33dias	18	12	Sig. @ 1%	2,55	7	3	2	Insig.
5°C/45dias	18	12	Sig. @ 1%	1,72	7	3	2	Insig.
5°C/90dias	18	15	Sig. >0,1%	2,22	9	1	5	Sig. @ 5%

NºP = número de provadores

NºA = número de acertadores

G.D. = grau de diferença

P = padrão

A = amostra

S/P = sem preferência

TABELA XLIV - AVALIAÇÃO DA AMOSTRA COM 1000 ppm DE SO₂.

CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM °C / dias	DIFERENÇA				PREFERÊNCIA			
	NºP	NºA	CONCLUSÃO	.D.	P	A	S/P	CONCLUSÃO
ZERO	18	16	Sig.>0,1%	2,39	4	7	5	Insig.
30°C/12dias	18	13	Sig.@ 0,1%	2,05	9	1	3	Sig.@ 5%
30°C/33dias	18	13	Sig.@ 0,1%	2,11	9	2	2	Insig.
5°C/45dias	18	14	Sig.>0,1%	2,39	9	2	3	Sig.@ 5%
5°C/90dias	18	15	Sig.>0,1%	1,67	6	4	5	Insig.

TABELA XLV - AVALIAÇÃO DA AMOSTRA COM 1500 ppm DE SO₂.

CONDIÇÕES DE ESTOCAGEM °C / dias	DIFERENÇA				PREFERÊNCIA			
	NºP	NºA	CONCLUSÃO	G.D.	P	A	S/P	CONCLUSÃO
ZERO	18	15	Sig.>0,1%	2,28	7	4	5	Insig.
30°C/12dias	18	15	Sig.>0,1%	1,94	10	1	4	Sig.@ 5%
30°C/33dias	18	14	Sig.>0,1%	1,94	9	2	3	Insig.
5°C /45dias	18	14	Sig.>0,1%	2,39	8	1	5	Insig.
5°C /90dias	18	14	Sig.>0,1%	2,00	8	1	3	Sig.@ 5%

NºP = número de provadores

NºA = número de acertadores

G.D. = grau de diferença

P = padrão

A = amostra

S/P = sem preferência

TABELA XLVI - AVALIAÇÃO FINAL.

Condições de estocagem °C / dias	Concentração de SO ₂ (ppm)			
	0	500	1000	1500
ZERO	-	SIG. > 0,1%	SIG. > 0,1%	SIG. > 0,1%
30°C/12dias	INSIG.	SIG. = 5%	SIG. = 0,1%	SIG. > 0,1%
30°C/33dias	INSIG.	SIG. = 1%	SIG. = 0,1%	SIG. > 0,1%
5°C/45dias	INSIG.	SIG. = 1%	SIG. > 0,1%	SIG. > 0,1%
5°C/90dias	INSIG.	SIG. > 0,1%	SIG. > 0,1%	SIG. > 0,1%

5 - CONCLUSÃO

Em razão dos resultados da avaliação de cor e sensorial nota-se que :

- no suco com 500 ppm de SO_2 conservado por 12 e 33 dias à 30°C , não ocorreu escurecimento, houve uma diferença significativa do padrão, e a preferência mostrou-se não significante.

No suco conservado à 5°C por 45 e 90 dias, não ocorreu escurecimento, a diferença do padrão foi significativa, sendo a preferência pelo padrão significante para o conservado por 90 dias e não significativa para o de 45 dias.

- no suco com 1000 ppm de SO_2 conservado por 12 e 33 dias à 30°C , não houve escurecimento, a diferença do padrão foi significante, e a preferência pelo padrão foi significante para o conservado por 12 dias e não significativa o de 33 dias.

No suco armazenado à 5°C por 45 e 90 dias, não ocorreu escurecimento, a diferença do padrão foi significante e a prefe-

rência pelo padrão foi significativa somente no de 90 dias.

- no suco com 1500 ppm de SO_2 e conservado por 12 e 33 dias à 30°C , não ocorreu escurecimento, a diferença do padrão foi significativa e a preferência pelo padrão se mostrou significativa sómente no de 33 dias.

No suco estocado à 5°C por 45 e 90 dias, não houve escurecimento, a diferença do padrão foi significativa e a preferência se mostrou significativa em relação ao padrão somente para o suco estocado por 90 dias.

Com o exposto, nota-se que a percepção de sulfito é marcante nos primeiros dias de armazenamento, tornando-se necessária então, a pesquisa de um método que mascare a presença deste, como também o prolongamento do tempo de armazenamento, para se determinar o limite, no qual a concentração de SO_2 proporciona proteção adequada ao suco.

Conforme os resultados apresentados neste trabalho, pode-se concluir :

- O suco de limão integral e não processado, quando estocado à temperatura ambiente (30°C) e adicionado de agente sulfitante poderá ser estocado por um período de 33 dias, pois durante este tempo não ocorreu escurecimento, mesmo na mais baixa concentração de SO_2 (500 ppm). Da mesma forma, poucas mudanças ocorreram nas ca-

racterísticas físico-químicas.

O suco sem adição de agente sulfitante não suporta esta temperatura e já no 4º dia de estocagem apresenta contaminação microbiológica, sendo que o escurecimento é notado a partir do 8º dia.

- Quando a estocagem é feita a frio (5°C) e há adição de agente sulfitante, a preservação é conseguida por um período de 90 dias. Durante este tempo não ocorre escurecimento e poucas mudanças são notadas.

A amostra sem adição de agente sulfitante, apresenta escurecimento a partir do 60º dia de estocagem.

- A análise sensorial indicou que o SO₂ é percebido, mesmo na mais baixa concentração (500 ppm).

O suco conservado com SO₂, quando comparado ao padrão mostrou possuir características do suco fresco, o que não ocorreu com o padrão, que apresentou nota oxidada.

- A utilização de SO₂ na conservação de suco de limão é o meio mais barato, efetivo e conveniente, visto que, ele é eficiente na prevenção do escurecimento não enzimático, alterações enzimáticas, bem como impede o desenvolvimento de microorganismos.

Em resumo, pode-se afirmar que a condição ideal de estocagem para o suco simples de limão é a 5°C com 500 ppm de SO₂.

6 - B I B L I O G R A F I A

- ADAMS, P.J. Orange juice quality as a function of oxygen concentration during packaging and storage. Proceedings of the 22nd Annual Short Course for the Food Industry. Univ. of Florida, Gainesville, Fl., 1982.
- ANONIMOUS. Sulfites as food ingredients. Food Technology, June, 47-52, 1986.
- ANONIMOUS. The sulfite controversy. Food Engeneering, October, 84-90, 1983.
- AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 11th ed., Washington, DC., 1980.
- AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14th ed., Washington, DC., 1984.

- AOAC. Changes in Methods. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC., vol. 69, n.2, 259, 1986.
- BARNETT, D. Sulfitos in foods, their chemistry and analysis. Food Technology in Australia. vol. 37, n.11, 503-505, 1985.
- BERLITZ, H.D., GROSCH, W. Química de los Alimentos. 2 ed. Zaragoza, España. Editorial Acribia S.A., 1982.
- BEUTLER, H.O. A new enzymatic method for determination of sulphite in food. Food Chemistry, 15, 157-164, 1984.
- BLEINROTH, H.A., HANSON, H.A., FERREIRA, V.L.P., ANGELUCCI, A. Conservação de limões das variedades Taiti e Siciliano pelo frio e com ácido giberélico. Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos. v. 7, 343-370, 1976.
- BOBBIO, F.O., BOBBIO, P.A. Introdução à Química de Alimentos. 2ª ed. Livraria Varela. São Paulo, 223 p., 1989.
- BOYD, R., MORRISON, R., DEID, R. Química Orgânica. Fundação Calouste Gulbenkian. 3ª ed. 1961.
- BRASIL. Portaria do Ministério da Agricultura nº 902, de 6 de no-

vembro de 1976. Estabelece : Complementação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Bebidas e Vinagres. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 13 de dezembro de 1976.

- BRASIL. Portaria do Ministério da Agricultura nº 076, de 27 de novembro de 1986. Estabelece : Metodologia de Análise de Bebidas e Vinagres. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 3 de dezembro de 1986.
- CARTER, B.A., Lemon and Lime Juice. In : Fruit Juice Processing Technology. Nagy, S., Chen, C.S., Shaw, P.E. (Ed.). AGScience, Inc. Auburndanale, Florida. 215-270, 1993.
- CHEFTEL, J.C., CHEFTEL, H. Introduccion a la Bioquimica y Tecnologia de los Alimentos. vol 2. Zaragoza, España. Editorial Acribia, 333 p., 1989.
- COX, D., HARRISON, H., JANDIK, P., JONES, W. Application of ion chromatography in the food and beverage industry. Food Technology. July, 41-53, 1985.
- DEVRIES, J.W., GE H., EBERT, F.J., MAGNUSON, J.M., OGAWA, M.K. Analysis for total sulfite in foods by using rapid distillation

followed by redox titration. Journal of Association of Analytical Chemistry, vol. 69, n.5, 827-830, 1986.

- EAKS, I.L. Effect of temperature and holding period on some physical and chemical characteristics of lemon. Journal of Food Science, vol. 26, n.6, 593-599, 1961.
- FAGERSON, I.S. Thermal degradation of carbohydrates. Journal of Agriculture and Food Chemistry, vol. 17, 747, 1969.
- FAZIO, T., WARNER, C.R. A review of sulphites in foods : analytical methodology and reported findings. Food Additives and Contaminants. vol. 1, n.4, 433-454, 1990.
- FENNELA, O.R. Food Chemistry. 2nd ed. Marcel Dekker Inc. New York and Basel. 991 p., 1985.
- FRIEND, J., RHODES, M.J.C. Recent Advances in the Biochemistry of Fruits and Vegetables. Academic Press. New York. 275 p., 1981.
- GRAUMLICH, T.P., MARCY, J.E., ADAMS, J.P. Aseptically packaged orange juice and concentrate : a review of the influence of processing and packaging conditions on quality. Journal of Agriculture and Food Chemistry. vol. 34, n.3, 1986.

- HAWTHORN, J. Fundamentos de Ciencia de los Alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza. España, 206 p., 1983.
- HENDRICKSON, R., KESTERSON, J.M. Hesperidin in Florida oranges. Bull. 684. Univ. of Florida Agric. Exp. Sta., Gainesville, Florida, U.S.A., 1964.
- HENDRIX, C.M, REDD, J.B. Citrus Juices. In: Production and Packaging of Non-Carbonated Fruit Juices and Fruit Beverages. D. Hicks. Beecham Products Slough, UK, London, 497 p., 1990.
- HOLAC, W., PATEL, B. Differencial pulse polarographic determination of sulfites in foods. Collaborative Study. Journal of Association Official Analytical Chemistry, vol. 70, n.3, 572-578, 1987.
- HORTON, E.S., LAVERRA, H.S. In : Fruit & Vegetables Juice Processing Technology. Nelson, P.E., Tressler (Ed.), D.K. Third Edition. Westport, Connecticut : AVI Publishing Company, 1980.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. vol. 1, 2ª ed. São Paulo, 1976.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção Agrícola Municipal. Boletim de 1991, 49, 1991.

- KEARSLEY, M.W., THANOS, A. Rapid determination of sulphur dioxide in foods. Journal of Association of Public Analysts, vol. 20, 145-152, 1982.
- KEFFORD, J.F., CHANDLER, B.V. The Chemical Constituents of Citrus Fruits. Advanced in Food Research. Supplement 2. Academic Press. New York, 1970.
- KIM, H.J., PARK, G.Y., KIM, Y.K. Analysis of sulfites in food by ion exclusion chromatography with eletrochemical detetion. Food Technology, january, 85-91, 1987.
- KIM, H.J., KIM, Y.K. Analysis of free and total sulphites in food by ion chromatography with eletrochemical detection. Journal of Food Science, vol. 51, n.5, 1360-1361, 1986.
- KIMBALL, D.A. Citrus Processing : Quality Control and Technology. Avi Book published by Van Nostrand Reinhold. N.Y. 1991.
- KLAVONS, J.A., BENNET, R.D. The nature of protein constituents of commercial lemon juice cloud. Journal of Food Agriculture Chemistry, vol. 33, 708, 1985.
- LAWRENCE, J.F., CHADHA, R.K. Determination of sulfite in foods by headspace liquid chromatography. Journal of Association of

Official Analytical Chemistry, vol. 71, n.5, 930-933, 1988.

- LAWRENCE, J.F., CHADHA, R.K., MÉNARD, C. Comparison of three liquid chromatographic methods with FDA optimized - Monier Williams method for determination of total sulfite in foods. Journal of Association of Official of Analytical Chemistry, vol. 73, n.1, 77-79, 1990.
- LEE, H.S., NAGY, S. Quality changes and nonenzymic browning intermediates in grapefruit in juice during storage. Journal of Food Science, vol. 53, n.1, 168, 1988.
- LEITÃO, M.F.F. Conservadores em alimentos que afetam sua eficiência no controle de microorganismos. Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos. Campinas, S.P., vol. 20, n.2, Julho-dezembro, 116-127, 1990.
- MARCY, J.E., HANSEN, A.P., GRAUMLICH, T.R. Effect of storage temperature on the stability of aseptically packaged concentrated orange juice and concentrated orange drink. Journal of Food Science. vol. 54, n.1, 227-229, 1989.
- MARSHAL, M., NAGY, S., ROUSEFF, R. Factors impacting on the quality of stored citrus fruit beverages. In Developments in Food

Science, vol. 12, Amsterdam, The Netherlands : G. Charalambous (Ed) Elsevier Publishers, 1986.

- MEILGAARD, M., CIVILLE, G .V.; CAN, T .B. Sensory Evaluation Techniques. Boca Raton. Florida, CRC Press Inc., 1987.
- MODDERMAN, J.P. Technological aspects of use of sulfiting agents in food. Foccus on sulfites in foods. Journal of Association of Official Analytical Chemistry, vol. 69, n. 1, 1-3, 1986.
- MOYLAN, J.G., BOWES, W.F., PAPPIN, W.J. Evaluation of Monier Williams and Commitee methods for bisulfite determination as used by the potato processing industry. Journal of Association of Official Analytical Chemistry, vol. 69, n. 1, 1986.
- NAGY, S. Vitamin C contents of citrus fruit and their products: a review. Journal of Agriculture and Food Chemistry, vol. 28, 8-18, 1980.
- PIZZOFEERRATO, L., QUATRUCCI, E., DI LULLO, G. Evaluation of an HPLC method for the determination of sulphiting agents in foods. Food Additive and Contaminants, vol. 7, n.2, 189-195, 1990.
- RADFORD, T., KAWASHIMA, K., FRIEDEL, P.K., POPE, L.E., GIAN TURCO,

- M.A. Distribution of volatile compounds between the pulp and serum of some fruit juices. Journal of Agriculture and Food Chemistry, vol. 22, n.6, 1066, 1974.
- RODRIGUEZ, M., SADLER, G.D., SIMS, C.A., BRADDOCK, R.J. Chemical changes during storage of an alcoholic orange juice beverage. Journal of Food Science, vol. 56, n.2, 475-479 e 493, 1991.
 - RODRIGUEZ, O., VIÉGAS, F. Citricultura Brasileira. São Paulo. Fundação Cargill, 1980.
 - SALOMON, E.A.G., DE MARTIN, Z.J., KATO, K., FERREIRA, L.P., EIROA, M.N.U., BLEINROTH, E.W. Conservação da polpa de goiaba em grandes recipientes por meio de metabissulfito de sódio. Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, São Paulo, vol. 7, 217- 231, 1976.
 - SALUNKHE.D.K., DESAI, B.B. Postharvest Biotechnology of Fruits, vol. 1, CRC Press Inc. U.S.A. 1984.
 - SAYAVEDRA-SOTO, L.A., MONTGOMERY, M.W. Inhibition of polyphenoloxidase by sulfite. Journal of Food Science, vol. 51, n.6, 1531-1536, 1986.
 - SCOTT, W.C., KEW, T.J., VELDHUIS, M.K. Compositions of orange jui

ce Cloud. Journal of Food Science, vol. 30, 833, 1965.

- SULLIVAN, J.J., HOLLINGWORTH, T.A., WEKELL, M.M., MEO, A.V., SABA, H.H., ETEMAD-MOGHADAM, A., PHILLIPS, J.G., GUMP, B.H. Determination of total sulfite in shrimp, potatoes, dried pineapple and white wine by flow injection analysis : collaborative study. Journal of Association of Official Analytical Chemistry, vol. 73, n.1, 35-42, 1990.
- TAYLOR, S.L., BUSCH, R.K. Sulfites in food ingredients. Food Technology, vol. 40, n.6, 47-52, 1986.
- TING, S.V., ATTAWAY, J.A. Citrus Fruits. In : A.C. Hulme (ed). The Biochemistry of Fruits and their Products, vol.2, Academic Press. New York. 151-152, 1971.
- TING, C.V. Citrus Fruits. In: Handbook of Tropical Foods. US. Department Agricultural Research Service. Hilo, Hawaii. Ed. Harvey T. Chan, Jr. Marcel Dekker, Inc., New York. 201-245, 1983.
- USDA. Chemistry and Technology of Citrus, Citrus Products and By Products, n.98. Agriculture Research Service. Department of Agriculture. Washington, DC., 1962.
- WAGNER, P.H., McGARRITY, J.M. The used of pulsed amperometry com-

bined with ion-exclusion chromatography for the simultaneous analysis of ascorbic acid and sulfite. Journal of Chromatography, 546, 119-124, 1991.

- WALKER, R. Sulphiting agents on foods : some risks/benefit considerations. Food Additives and Contaminants. vol. 2, 5-24, 1985.
- WEDZICHA, B.L. Chemistry of Sulphur Dioxide in Foods. New York : Elsevier Applied Science Publishers. New York, N.Y., 1984.
- WEDZICHA, B.L. Chemistry of sulphur dioxide in vegetable dehydration. International Journal of Food Science and Technology, vol. 22, 433-450, 1987.
- WEDZICHA, B.L.; GODDARD, S.J. The dissociation constant of hydrogen sulphite ion at high ionic strength. Food Chemistry, vol. 30, 67-71, 1988.
- ZIPPER, A.F. The measurement of sulphur dioxide losses in fruit juices. Food Technology in Australia, June, 228-231, 1974.