UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

GIOVANNA FACHINI DELLAQUA

Efeitos na caracterização físico-química e sensorial da polpa de *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum (cambuci) quando submetida a diferentes tratamentos agroindustriais

Piracicaba
2016

GIOVANNA FACHINI DELLAQUA

Efeitos na caracterização físico-química e sensorial da polpa de *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum (cambuci) quando submetida a diferentes tratamentos agroindustriais

Versão revisada de acordo com a CoPGr 6018 de 2011

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente

Orientadora: Profa. Dra. Marta Helena Fillet Spoto

Piracicaba

2016

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Dellaqua, Giovanna Fachini
Efeitos na caracterização físico-química e sensorial da polpa de *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum (cambuci) quando submetida a diferentes tratamentos agroindustriais / Giovanna Fachini Dellaqua; orientadora Marta Helena Fillet Spoto. - - versão revisada de acordo com a CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016.

113 p. : il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Alimentos industrializados 2. Análise de alimentos 3. Análise sensorial de alimentos 4. Aromas de frutas 5. Composição de alimentos 6. Compostos voláteis 7. Frutas nativas 8. Liofilização 9. Pasteurização 10. Processamento de alimentos I. Título

CDU 634.42 : 544.016

AGRADECIMENTOS

Ao meu querido esposo e pesquisador Dr. Marcelo Machado Leão, que sem o seu intenso esforço e dedicação esse trabalho não seria possível.

Agradeço, do fundo do meu coração, à minha mãe Angela por estar sempre junto comigo.

Às minhas queridas irmãs Flávia e Augusta por fazerem parte dessa conquista.

Aos meus queridos avós Alzira e Germano Fachini, por todos os ensinamentos e pensamentos positivos.

Aos meus sogros Regina e José Flavio pelo apoio e auxílio.

À minha orientadora Profª. Drª. Marta Helena Fillet Spoto, por me acolher e pela prova de confiança, amizade ao longo do trabalho.

À Profª. Drª. Márcia Ortiz Mayo Marques, do Instituto Agronômico/IAC, pela extrema atenção e comprometimento indispensáveis à realização deste projeto.

À pesquisadora Drª. Roselaine Facanali, pelas sugestões, colaborações e atenção dispensada, essencial ao desenvolvimento do projeto.

Ao Profº. Drº. Marcos David Ferreira e à analista Silviane Zanni Hubinger da Embrapa Instrumentação - São Carlos, pelo auxilio na execução da análise do teor de vitamina C das polpas do fruto do cambucizeiro.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pois o trabalho desenvolvido é uma parte do projeto de Auxílio à Pesquisa da (processo 2014/07338-0) “Avaliação do potencial de utilização agroindustrial do cambuci - Campomanesia phaea (O. Berg.) Landrum”, iniciado em 2014 e teve como beneficiária a Profª Drª Marta Helena Fillet Spoto.

Às empresas Embaquim Ind. e Com Ltda pela doação das embalagens utilizadas no armazenamento das polpas de cambuci.

À empresa Liotécnica pelo auxílio no processamento de liofilização da polpa.

Aos meus queridos amigos Luiz Armando, Kamila e Beatriz Cancilieri por me apoiarem em todos os momentos.

A todos os meus amigos que sempre me acompanharam nos momentos fáceis e difíceis de minha vida.

A todos os amigos, professores e funcionários do Departamento de Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, do Instituto Agronômico de Campinas – IAC, e da Embrapa Instrumentação São Carlos que me ajudaram e contribuíram para a realização desse trabalho em especial:

E, por fim, a todos que colaboraram direta, ou indiretamente, para a realização desse trabalho.

RESUMO

DELLAQUA, G. F. **Efeitos na caracterização físico-química e sensorial da polpa de *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum (cambuci) quando submetida a diferentes tratamentos agroindustriais.** 2016. 113 p. Dissertação (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

O emprego comercial de polpas de frutas tropicais tipicamente brasileiras na indústria de alimentos e bebidas reflete uma tendência cada vez mais acentuada em oferecer produtos processados diferenciados ao mercado, apresentando, ao mesmo tempo, alternativas saudáveis à nutrição humana que poderão trazer impactos sociais, ambientais e econômicos altamente positivos, influenciando toda uma cadeia de negócios, bastante significativa no Brasil e com grande potencial de crescimento. O desenvolvimento de produtos vegetais, especialmente a partir de frutas nativas, podem agregar valores bastante significativos aos derivados comerciais industrializados. Neste contexto, o presente projeto proposto contemplou a caracterização dos componentes físico-químicos, nutricionais, microbiológicos, compostos voláteis e sensoriais, existentes na polpa obtida a partir do processamento dos frutos da espécie *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum (cambuci), visando a sua eventual utilização como matéria-prima para a aplicação na indústria de alimentos e de bebidas. O trabalho buscou conhecer e avaliar as possíveis utilizações dessa fruta no mercado, após diferentes tipos de processamentos agroindustriais (pasteurização, liofilização, congelamento e refrigeração). Os resultados obtidos demonstraram que a espécie apresenta uma dispersão muito restrita no bioma da Mata Atlântica, com uma cadeia de produção e comercialização já instalada, embora ainda em estágio inicial, porém com grande potencial de crescimento. As polpas de cambuci analisadas apresentaram grande potencial de aproveitamento comercial principalmente em relação a suas características aromáticas e físico-químicas (alto rendimento de polpa e elevada acidez) com um teor significativo para vitamina C, sugerindo que as ingestões das mesmas podem contribuir de forma positiva à saúde humana. Apesar de todos os tratamentos agroindustriais propostos terem sido eficientes em relação a conservação dos padrões de identidade e qualidade, durante o período de armazenamento, as amostras de polpa congelada integral e polpa congelada sem casca foram as que mais se destacaram em relação ao custo/benefício, uma vez que estes tratamentos apresentam menor complexidade em suas operações. Foi também evidenciado que devido a presença de taninos na casca do cambuci, o que resulta em um paladar adstringente, o suco tropical elaborado a partir da polpa dos frutos sem casca foi o preferido pelos provadores. Os principais compostos voláteis majoritários encontrados nas polpas processadas foram: o linalol para os tratamentos Pasterização+congelamento (23,4%), Pasterização+refrigeração (26,1%) e Congelamento Integral (12,7%); o limoneno para o tratamento congelamento sem casca (11,2%); o 1-hexanol para o tratamento refrigeração (44,4%); e o 1,8 cineol para o tratamento liofilização (16,8%).

Palavras chaves: Cambuci. *Campomanesia phaea*. Vitamina C. Compostos voláteis. Frutas nativas. Polpa de fruta.

ABSTRACT

DELLAQUA, G. F. **Effects on physicochemical and sensorial characterization of pulp of *Campomanesia phaea* (o. Berg.) Landrum (cambuci) when subjected to different agro-industrial treatments**. 2016. 113 p. Dissertação (Mestrado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

The commercial use of tropical fruit pulps that are characteristically Brazilian in food and beverage industry reflects a growing trend toward to offer processed products, differentiated on the market, presenting at the same time healthy alternatives to human nutrition that can bring social, environmental and economic impacts highly positive, influencing a whole chain of business, quite significant in Brazil and with huge potential for growth. The development of plant products, especially from native fruits, can add significant values to industrialized commercial derivatives. In this context, the present study has included the characterization of physicochemical, nutritional, microbiological, volatile compounds and sensory of fruit pulp obtained from processing of the fruits of the species *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum (cambuci) aiming it possible use as raw material for the application in the food and beverage industry. The work sought to know and evaluate the possible uses of this fruit in the market, after different types of agroindustrial processing (pasteurization, freeze-drying, freezing and refrigeration). The results demonstrated that the species presents a very restricted dispersion in the Atlantic Forest biome, with a production and marketing chain already installed, although still in its early stages, but with great potential for growth. The cambuci's pulps analyzed presented a great potential for commercial use mainly in relation to their aromatic and physicochemical characteristics (high yield of pulp and high acidity) with a significant concentration of vitamin C, suggesting that its intake can contribute to human health. Despite all the agroindustrial treatments proposed have been efficient with regard to conservation of the identity and quality standards, during the storage period, the whole and peeled frozen pulp samples were the ones that who stood out the most by cost and benefit, since these treatments feature less complexity in their operations. Foi também evidenciado que devido a presença de taninos na casca do cambuci, o que resulta em um paladar adstringente, o suco tropical elaborado a partir da polpa dos frutos sem casca foi o preferido pelos provadores. It was also evidenced that due to the presence of tannins in the cambuci's peel, which results in an astringent palate, the tropical juice elaborated from the pulp of the shelled fruit was preferred by testers. The main volatile compounds found in the processes pulps were: linalool for frozen-pasteurized pulp (23,4%), frozen-refrigerated pulp (26,1%) and frozen pulp (12,7%); the limonene for peeled frozen pulp (11,2%); the 1-hexanol for Refrigerated pulp (44,4%); and 1,8 cineol for lyophilized pulp (16,8%).
Keywords: cambuci, *Campomanesia phaea*, vitamin C, volatile compounds, native fruits, fruit pulp.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Remanescentes florestais e Áreas Naturais da Mata Atlântica 20
Figura 2 - Detalhe do cambucizeiro 22
Figura 3 - Distribuição da espécie Campomanesia phaea no domínio da Mata Atlântica 23
Figura 4 - Fruto do cambucizeiro 23
Figura 5 - Coletânea de informações veiculadas na mídia (cartazes e notícias de jornais) sobre o cambuci (C.phaea)..... 24
Figura 6 - Diagrama de desenvolvimento do trabalho 32
Figura 7 - Vista geral da região de amostragem da espécie objeto de estudo, em Paraibuna (SP) 34
Figura 8 - Câmara de refrigeração onde ficou armazenado o material coletado, até atingir o volume necessário às análises 34
Figura 9 - Aspecto do carregamento do material em caixas térmicas para o transporte até o laboratório..... 34
Figura 10 - Seleção das áreas objeto de coleta 34
Figura 11 - Interior da câmara de refrigeração, observando-se o material coletado (amostras compostas provenientes de diferentes fornecedores regionais)..... 34
Figura 12 - Frutos armazenados a baixa temperatura, no laboratório da ESALQ-USP, em Piracicaba (SP)..... 34
Figura 13 - Operações de lavagem e higienização dos frutos do cambuci 35
Figura 14 - Aspectos do processamento dos frutos de cambuci 36
Figura 15 - Embalagem utilizada para o acondicionamento das polpas do cambuci 37
Figura 16 - Pasteurizador tubular vazão 200 L/H 38
Figura 17 - Dispositivo da fibra de SPME: (A) Posição com a fibra retraída na agulha; (B) posição com a fibra exposta. No detalhe, são apresentadas as dimensões típicas da seção com recobrimento de 100 mm de espessura. 43
Figura 18 - Extração e dessorção de compostos voláteis com o uso da técnica de SPME . 44
Figura 19 - Esquema do preparo das diluições 46
Figura 20 - Índice de acidez (pH) 53
Figura 21 - Acidez titulável média por período da polpa de cambuci durante o período de 90 dias de armazenamento 54
Figura 22 - Acidez titulável média por tratamento da polpa de cambuci durante o período de armazenamento 55
Figura 23 - Média de sólidos solúveis da polpa de cambuci, quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias 57

Figura 24 - Atividade de água da polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias 59
Figura 25. Teor de ácido ascórbico em diferentes frutas 60
Figura 26 - Teor de ácido ascórbico expresso em mg, presente em 100g de polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias 61
Figura 27 - Luminosidade da polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias 62
Figura 28 - Ângulo de cor médio da polpa de cambuci para cada tratamento 63
Figura 29 - Cromaticidade da polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias 64
Figura 30 - Análise de Componentes Principais, utilizando os parâmetros compostos voláteis: projeção das variáveis e das observações. Variáveis: PC= Componente Principal 67
Figura 31 - Dendrograma obtido a partir da Análise Hierárquica de Agrupamentos (AHC) do perfil volátil das polpas pós processamento 69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição centesimal do fruto de cambuci 49
Tabela 2 - Composição centesimal do fruto de cambuci e da polpa pasteurizada congelada, pasteurizada refrigerada, congelada integral, congelada sem casca, refrigerada e liofilizada, expressa em g 100 g^{-1} (%) de polpa na base seca 50
Tabela 3 - Composição centesimal do fruto de cambuci e da polpa pasteurizada congelada, pasteurizada refrigerada, congelada integral, congelada sem casca, refrigerada e liofilizada, expressa em g 100 g^{-1} (%) de polpa na base úmida. 50
Tabela 4 - Caracterização físico-química do fruto de cambuci 51
Tabela 5 - Teste F (ANOVA) do tempo de armazenamento e sua interação com os aspectos físico-químicos dos diferentes tratamentos aplicados na polpa do fruto cambuci 52
Tabela 6 - pH da polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias 53
Tabela 7 - Acidez titulável média da polpa de cambuci durante o período de 90 dias de armazenamento 54
Tabela 8 - Acidez titulável média da polpa de cambuci durante o período de 90 dias de armazenamento 55
Tabela 9 – Média de sólidos solúveis da polpa de cambuci, quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias 57
Tabela 10 - Atividade de água da polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias 59
Tabela 11. Níveis médios de vitamina C no fruto do cambucizeiro 60
Tabela 12 - Teor de ácido ascórbico expresso em mg, presente em 100g de polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias 61
Tabela 13 - Luminosidade da polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias 62
Tabela 14 - Ângulo de cor médio da polpa de cambuci para cada tratamento 63
Tabela 15 - Cromaticidade da polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias 64
Tabela 16 - Composições químicas dos compostos voláteis encontrados para cada tratamento 66
Tabela 17 - Teste sensorial de aceitação da polpa de cambuci submetida aos tratamentos: pasteurização+congelamento, congelamento integral, congelamento sem casca e liofilização 70

Tabela 18 - Teste sensorial de diferença da polpa de cambuci submetida aos tratamentos: pasteurização+congelamento, congelamento integral, congelamento sem casca e liofilização 71
Tabela 19 - Contagem total de bolores e leveduras nos sete períodos analisados avaliando todos os tratamentos 73
Tabela 19 - Contagem de microrganismos psicrotróficos nos sete períodos dos diferentes processos de conservação 73

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC – *Association of Analytical Communities*

AOCS – *American Oil Chemists' Society*

BDA - Ágar Batata Dextrose

Carboxen - carvão ativo microparticulado

CENA – Centro de Energia Nuclear na Agricultura

CG - cromatografia gasosa

CNCFlora - Centro Nacional de Conservação da Flora

Cwx - Carbowax

DCPIP – 2,6-diclorofenol-indofenol-sódio

EM - espectrometria de massas

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

ESALQ – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura)

HPLC – High-performance Liquid Chromatography (Cromatografia Liquida de Alta Eficiência)

IBF - Instituto Brasileiro de Florestas

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística IC – Intenção de Compra

IFT – *Institute of Food Technologists* (Instituto de Tecnologia de Alimentos) IOM – *Institute of Medicine* (Instituto de Medicina)

IG – Impressão Global

INPE - Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais

IAC - Instituto Agronômico

IUCN - *International Union for Conservation of Nature*

LAN – Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição MTBE – Éter metil terc-butílico

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

PA - poliacrilato

PDMS - polidimetilsiloxano

PET - polietileno

SPME - *Solid Phase Micro Extration*

TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

UV – Ultravioleta

WHO/ OMS – World Health Organization / Organização Mundial de Saúde

Kg – kilograma

G – gramas

NaOH – Hidróxido de sódio

NaCl – Cloreto de sódio

ºC – Graus Celsius

C - croma

H - ângulo Hue

L* - luminosidade

µL – microlitro

mm – milímetros

mg – miligramas

UFC - unidades formadoras de colônias

SS - sólidos solúveis

vs – versus

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 17
2. OBJETIVOS 19
3. REVISÃO DA LITERATURA 20
3.1. O bioma da Mata Atlântica 20
3.2. A família das mirtáceas 21
3.3. A espécie Campomanesia phaea (cambuci) 22
3.4. Processamento de polpas de frutas 25
3.5. Compostos voláteis 27
3.6. Análise sensorial 30
4. MATERIAIS E MÉTODOS 32
4.1. Seleção dos sítios de amostragem 32
4.2. Processamento da polpa 35
4.2.1. Seleção, lavagem e higienização 35
4.2.2. Descascamento manual 35
4.2.3. Desintegração do fruto 36
4.2.4. Tratamentos efetuados 36
4.3. Composição centesimal 39
4.3.1. Umidade 39
4.3.2. Cinzas (% base úmida) 39
4.3.3. Lipídios (% base úmida) 40
4.3.4. Proteínas (% base úmida) 40
4.3.5. Fibra alimentar (%): 40
4.4. Análises físico-químicas 40
4.4.1. pH 41
4.4.2. Acidez titulável 41
4.4.3. Teor de sólidos solúveis (°Brix) 41
4.4.4. Relação sólidos solúveis/acidez titulável (ratio): 41
4.4.5. Atividade de água (Aa) 41
4.4.6. Ácido L-ascórbico: 41
4.4.7. Coloração (L*, ângulo de cor Hue e cromaticidade) 42
4.5. Caracterização dos compostos voláteis 42
4.5.1. Captura e análise dos aromas da fruta do cambuci e da polpa processada: 42
4.5.2. Preparo e recondicionamento das armadilhas 42
4.6. Análise sensorial 44
4.6.1. Teste de aceitação com a utilização da escala hedônica: 45
4.6.2. Teste de diferença do controle 45
4.7. Análise microbiológica 45
4.7.1. Preparo de materiais 46

4.7.2. Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e coliformes a 45ºC 46
4.7.3. Contagem total bolores e leveduras 47
4.7.4. Análise da presença de Salmonella sp. 47
4.7.5. Contagem de microrganismos psicrotróficos 47
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA 48
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO 49
6.1. Composição centesimal 49
6.2. Análises físico-químicas 51
6.2.1. Fruto do cambuci 51
6.2.2. Polpa do cambuci após processamento 52
6.2.2.1. Índice de acidez (pH) 52
6.2.2.2. Acidez titulável (AT) 54
6.2.2.3. Sólidos solúveis totais (TSS) 56
6.2.2.4. Ratio 58
6.2.2.5. Atividade de água (Aa) 58
6.2.2.6. Vitamina C 59
6.2.2.7. Cor 61
6.3. Compostos voláteis - identificação dos compostos voláteis 64
6.4. Análise sensorial 70
6.4.1. Aceitação 70
6.4.2. Diferença 71
6.5. Análises microbiológicas 72
6.5.1. Fruto recém processado 72
6.5.2. Contagem coliformes totais e termotolerantes 72
6.5.3. Salmonella sp. 72
6.5.4. Contagem total de bolores e leveduras 72
6.5.5. Contagem de microrganismos psicrotróficos 73
7. CONCLUSÕES 74
REFERÊNCIAS 75
8. Trabalhos apresentados em conferências internacionais 83
9. Artigos publicados em revistas científicas indexadas 87
10. Lista das publicações submetidas 96
ANEXOS 98
Anexo A 99
Anexo B 101
Anexo C 104

1. INTRODUÇÃO

O projeto proposto contemplou a caracterização física, química, nutricional, microbiológica e sensorial da polpa de cambuci (*Campomanesia phaea*), uma espécie de mirtácea típica da Mata Atlântica, visando sua eventual utilização como matéria-prima para o emprego na indústria de alimentos e bebidas.

As polpas de frutas podem ser definidas como produtos não fermentados, não concentrados, não diluídos, obtidos pelo esmagamento de suas partes comestíveis, mediante processo tecnológico adequado, com o teor mínimo de sólidos totais, segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (BRASIL, 2000a; 2000b). As polpas podem ser utilizadas em uso direto, na produção de bebidas (não alcoólicas), alimentos ou para fins industriais.

O emprego de polpas de frutas tropicais nativas processadas na indústria de alimentos e bebidas reflete uma tendência cada vez mais acentuada das empresas, para oferecer constantemente novidades aos consumidores. Como exemplo dessa situação pode ser citada a utilização bem-sucedida de diversas espécies vegetais extraídas da vegetação nativa de nosso país, como é o caso da pitanga (*Eugenia uniflora* L.), da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), entre muitas outras espécies, amplamente empregadas na produção de alimentos e de bebidas (licores, sorvetes, geleias, sucos, entre outros).

Acredita-se que, com a incorporação de novos ativos vegetais, a partir da bioprospecção de matérias-primas provenientes de exemplares da flora brasileira, será possível a elaboração de produtos diferenciados, permitindo que as empresas se posicionem melhor em um mercado cada vez mais competitivo, sempre carente de novidades e inovações.

Nesse contexto, a família das mirtáceas apresenta um interessante potencial para o uso como matérias-primas destinadas ao aproveitamento agroindustrial, devido a sua ampla diversidade e peculiaridades especiais. Esse grupo de plantas pode ser considerado um dos mais ricos em diversidade de nossa flora, devido às suas características morfológicas e anatômicas (CRONQUIST, 1984).

O desenvolvimento de novos produtos obtidos a partir de mirtáceas nativas do Brasil poderá trazer impactos altamente positivos, influenciando toda a cadeia de negócios, além de estipular a valorização de comunidades extrativistas instaladas nas suas regiões de origem. Essa cadeia produtiva, com grande potencial de crescimento,

inicia-se no cultivo e no manejo das plantas, passa pela colheita, processamento dos frutos e comercialização. Envolve, ainda, empresas fabricantes de insumos, transporte, embalagens, e outras matérias-primas, necessárias ao processo de fabricação dos produtos finais.

Acredita-se que, o desenvolvimento de trabalhos dessa natureza, possa contribuir para gerar mais empregos e renda à população local, agregar valor e estabelecer parâmetros para o desenvolvimento e a comercialização dessa emblemática espécie vegetal nativa de uma pequena região da Mata Atlântica.

2. OBJETIVOS

O principal objetivo do trabalho foi avaliar diferentes tecnologias para a conservação da polpa obtida a partir dos frutos de cambuci – *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum, de maneira a garantir a sua preservação e a maior valorização de seus princípios ativos, possibilitando a sua utilização na indústria de alimentos e bebidas. Para tanto, foram aplicados diferentes métodos de processamento (congelamento direto, refrigeração direta, pasteurização e liofilização) nas polpas obtidas a partir dos frutos do cambuci.

O trabalho ainda contou com os seguintes objetivos específicos, a fim de avaliar a qualidade da polpa como produto acabado, ou como fonte de matéria-prima para a aplicação na indústria de alimentos e bebidas:

- Caracterização nutricional, físico-química e microbiológica do fruto *in natura* e da polpa recém processada;
- Efeito do armazenamento por um período de 90 dias nas características físico, químicas e microbiológica das polpas processadas;
- Identificação e quantificação o teor de ácido ascórbico por cromatografia líquida, presentes nas polpas de frutas do cambuci pasteurizadas, congeladas, refrigeradas e liofilizadas;
- Qualificação e quantificação dos compostos voláteis por cromatografia, presentes nas polpas de frutas do cambuci pasteurizadas, congeladas, refrigeradas e liofilizadas;
- Avaliação sensorial do suco tropical da polpa de cambuci obtida a partir dos diferentes tratamentos agroindustriais.

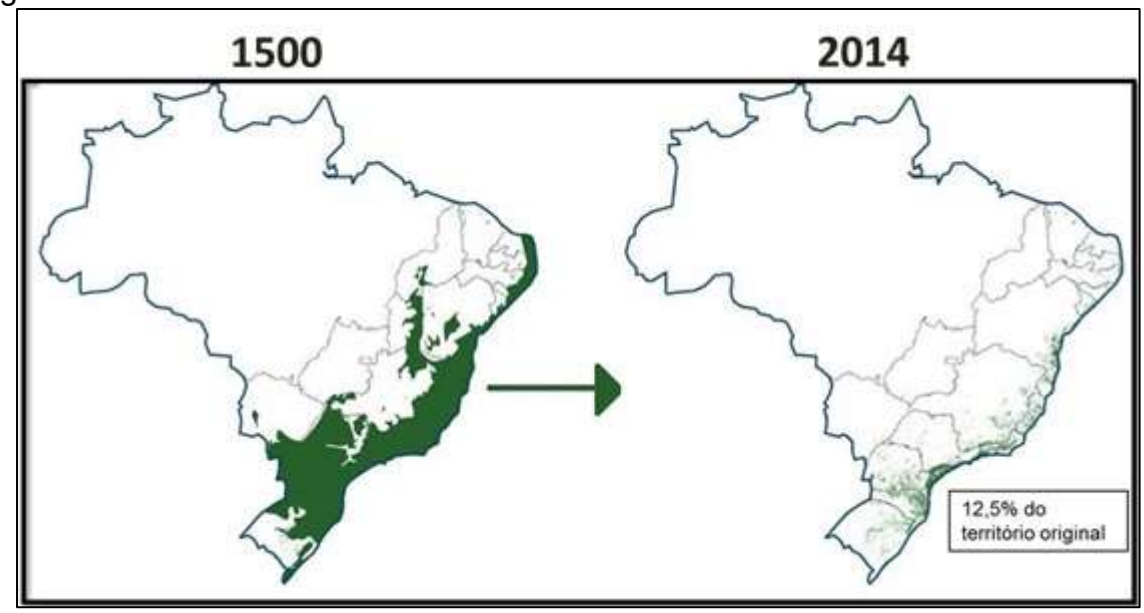
3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. O bioma da Mata Atlântica

A Mata Atlântica é um dos biomas mais ricos em diversidade biológica, e, também, um dos mais ameaçados do planeta (FUJIHARA et al., 2009). Segundo dados do Instituto Brasileiro de Florestas (IBF), o bioma apresenta variedade de formações, incorporando um diversificado conjunto de ecossistemas florestais com estrutura e composições florísticas muito diferenciadas.

Atualmente, mais de 67% da população brasileira vive nas áreas de domínio da Mata Atlântica, e o resultado dessa ocupação é a perda quase total das florestas originais intactas e a contínua devastação dos remanescentes florestais existentes, fazendo com que esse bioma seja um dos mais ameaçados do planeta, independente do importante valor social, econômico e ambiental da conservação das espécies nativas endêmicas (figura 1) (LEÃO, 2012; SOUZA, 2009; CASTELUCCI, 2015; FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA; INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS - INPE, 2001).

Figura 1 - Remanescentes florestais e Áreas Naturais da Mata Atlântica



Fonte: SOS Mata Atlântica: http://mapas.sosma.org.br/site_media/download/atlas_2013-2014_relatorio_tecnico_2015.pdf.

Segundo Souza (2009), uma das grandes barreiras para a conservação de florestas tropicais é a falta de conhecimentos sobre essas regiões. A cada ano, são descritas inúmeras novas espécies, porém, ainda existem áreas pouco conhecidas, e os recursos humanos e investimentos para esses trabalhos são limitados.

Muitas espécies vegetais frutíferas nativas da Mata Atlântica apresentam grande potencial nutricional e econômico a ser explorado. Várias delas são mencionadas na literatura, devido a sua capacidade de produzir polpas e óleos essenciais, pela riqueza em propriedades funcionais, nutricionais e, até mesmo, farmacológicas (GENOVESE et al., 2008; LEÃO, 2012; GONCALVES et al., 2010; CASTELUCCI, 2015). Todavia, essa abundância de frutas nativas, com sabores peculiares e interessantes para a industrialização, é pouco conhecida ainda e, muitas vezes, subaproveitadas.

3.2. A família das mirtáceas

A família Myrtaceae é uma das maiores da flora brasileira, que se destaca pela grande importância econômica, social e ambiental, devido à sua diversidade biológica (VETO, 2015). Compõe-se por mais de 130 gêneros e cerca de 4000 espécies, representadas por árvores e arbustos, reconhecidos pela combinação de folhas simples, geralmente contendo: glândulas oleíferas; flores hermafroditas, brancas, ovário ínfero, 4-5 pétalas, estames numerosos; frutos carnosos, inúmeras sementes e cálice persistente (KAWASAKI; LANDRUM, 1997; SOUZA; LORENZI, 2008).

A família possui numerosas espécies frutíferas, seus frutos são consumidos por humanos e por várias espécies de pássaros e mamíferos, são carnosos, suculentos e ricos em compostos bioativos. Também são usados na produção de fármacos-cosméticos, doces caseiros, sorvetes, aguardentes, licores e refrescos, entre outras aplicações (LORENZI, 2014; CEPEN, 2003; GENOVESE et al., 2008; GONCALVES et al., 2010; HAMINIUK et al., 2011).

Haminiuk et al. (2011) cita como exemplos de fontes de bioativos em mirtáceas brasileiras: diversas variedades de jabuticabas (*Myrciaria cauliflora*), a pitanga (*Eugenia uniflora)*, a cabeludinha (*Eugenia tomentosa)*, a uvaia *(Eugenia uvalha)*, a grumixama (*Eugenia brasiliensis* La M.), o cambucá - *Marlierea edulis* (Berg) Nied, a guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa)*, o araçá (*Psidium cattleyanum*), a cereja-nacional (*Eugenia involucrata*), além do cambuci (*Campomanesia phaea).*

3.3. A espécie *Campomanesia phaea* (cambuci)

O gênero Campomanesia é representado por aproximadamente 25 espécies, distribuídas exclusivamente na América do Sul. A maior concentração destas espécies ocorre no Nordeste e Sudeste do Brasil, mas, existem outras, em menor quantidade, mais distantes, presentes na Colômbia e Venezuela.

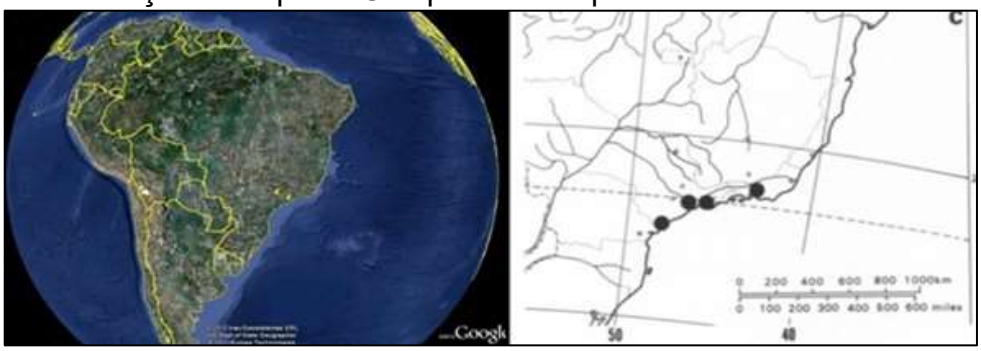
As espécies desse gênero possuem importância econômica diversificada e podem fornecer madeira de qualidade para a marcenaria e carpintaria; suas dimensões, porém, só permitem o seu emprego para a confecção de peças pequenas, como cabos de ferramentas e instrumentos agrícolas.

A espécie *Campomanesia phaea* (O. Berg.). Landrum, objeto desse estudo, é popularmente conhecida como “cambuci”, ou “cambucizeiro” (Figura 2). É encontrada nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. Neste último local de sua ocorrência natural, é encontrada principalmente na região da vertente da Serra do Mar para o planalto paulista e no início do planalto em direção ao interior, como se observa na Figura 3 (LORENZI, 2014).

Figura 2 - Detalhe do cambucizeiro

Foto: Acervo pessoal.

Figura 3 - Distribuição da espécie Campomanesia phaea no domínio da Mata Atlântica



Fonte: *GoogleEarth* e Flora Neotropica.

A forma do fruto do cambucizeiro teria sido a responsável pela origem de seu nome. Cambuci, na língua tupi, era o nome dado pelos indígenas aos potes de cerâmica por eles utilizados, cujo formato se assemelhava ao daqueles frutos (Figura 4).

Figura 4 - Fruto do cambucizeiro

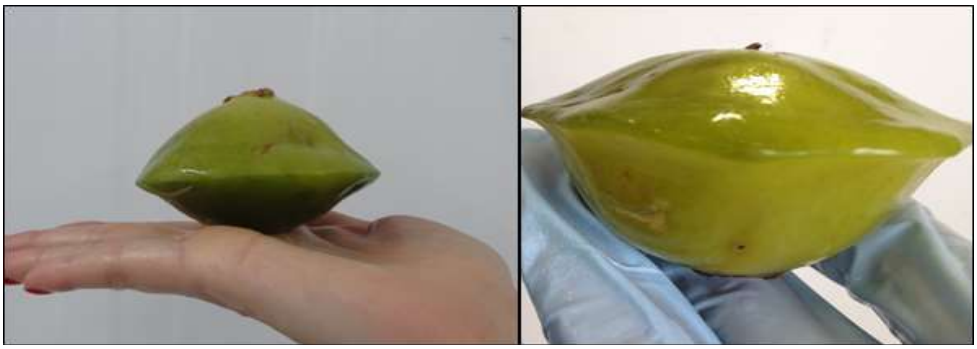


Foto - Acervo pessoal.

No início do século XX, a abundância dos cambucizeiros na cidade de São Paulo deu origem ao tradicional bairro do Cambuci. Hoje, dificilmente eles são encontrados no espaço urbano. Devido ao desmatamento ocorrido em suas áreas de ocorrência natural, o cambuci é considerado uma das espécies “vulneráveis” pela *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) e “quase ameaçada” pelo Centro Nacional de Conservação da Flora (CNCFlora).

Os frutos de *C. phaea* são considerados exóticos, com interessantes propriedades aromáticas que os favorecem como agentes flavorizantes em alimentos e bebidas, mas apresentam limitações para o consumo *in natura,* em face do baixo teor de carboidratos e elevada acidez. Possuem, no entanto, alto potencial para a industrialização, por causa dos seus atributos de qualidade, como alto rendimento de polpa, elevada acidez, razoáveis concentrações de ácido ascórbico, minerais e fibras alimentares (VALLILO et al., 2005; ADATI; FERRO, 2006; LEÃO, 2012).

A comercialização do cambuci ainda é pouco desenvolvida no Brasil, não possuindo registros no censo agropecuário do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) restringindo-se às pequenas cidades próximas aos locais que tradicionalmente produzem o fruto (CORDEIRO, 2015). Seu plantio tem sido incentivado por organizações não governamentais e cooperativas, como o Instituto Auá de Empreendedorismo Socioambiental, o Instituto H&H Fauser e a Cooper Cambucy da Serra, com o objetivo de apoiar diferentes empreendimentos socioambientais na promoção do desenvolvimento sustentável, conservação do meio ambiente, estimulo à cultura e à conservação do patrimônio histórico, artístico e cultural, além de fortalecer o orçamento familiar local dos pequenos produtores (Figura 5).

Figura 5 - Coletânea de informações veiculadas na mídia (cartazes e notícias de jornais) sobre o cambuci (C.phaea)

No que se refere à composição físico-química do fruto *in natura* Vallilo et al. (2005) encontraram elevados teores de fibras alimentares (4,00%), quando comparados a outras espécies popularmente conhecidas da família das mirtáceas.

Ao analisar frutas nativas brasileiras *in natura* e processadas na forma de polpas congeladas, Gonçalves (2008) observou que a polpa de cambuci apresentou ótima capacidade antioxidante, com resultados semelhantes aos de frutas ricas em antocianinas com alto potencial antioxidante como o morango. Foi detectada, na polpa do fruto, alta atividade inibitória de α-amilase e a α-glicolidase, que são enzimas utilizadas no tratamento da *Diabetes mellitus* do tipo 2.

Gonçalves, Lajolo e Genovese (2010) observaram que a polpa congelada apresenta altos teores de derivados glicosilados de quercetina, considerada também uma rica fonte de ácido elágico, assim como camu-camu (*Myrciaria dúbia*), araçá (*Psidium catteianum*), umbu (*Spondias tuberosa*) e cagaita (*Stenocalyx dysentericus*).

Alguns estudos fitoquímicos e farmacológicos realizados nas folhas da espécie por Adati e Ferro (2006) e Leão (2012) detectaram significativa quantidade de óleo essencial rico em linalol (11,11%), óxido de cariofileno (11,77%), 221 β-cariofileno (6,33%), β- selineno (6,33%) e α-cadinol (1,94%). O linanol é um importante óleo essencial para a indústria farmacêutica, que apresenta ação analgésica a anti-inflamatória e antiespasmódica em diferentes modelos animais (LIS-BALCHIN et al., 1999; PEANA et al., 2006).

3.4. Processamento de polpas de frutas

A agroindústria de polpas e sucos de frutas cítricas e tropicais é bastante relevante no cenário mundial, mas ainda existe um considerável potencial a ser explorado nessa área, principalmente no Brasil, diante da grande biodiversidade da flora nacional.

O uso e a aplicação das frutas na forma de polpa é um método de conservação que estende o período de sua vida útil, possibilitando a sua comercialização durante todo o ano e em diferentes formas: doces em massa, geleias, gelados comestíveis, néctares, sucos etc. Dessa forma, o processamento de frutas geralmente se mostra uma interessante possibilidade para o seu aproveitamento comercial (ICMSF, 1980; BUENO et al., 2002).

A indústria de polpa de frutas busca a obtenção de um produto semelhante à fruta *in natura,* no que se refere aos aspectos sensoriais e nutricionais, seguindo os

padrões microbiológicos exigidos na legislação, e atendendo às exigências do consumidor (AMARO et al., 2002).

Estabelecer uma correlação direta e precisa entre a produção de alimentos e a demanda populacional é um dos grandes problemas dos órgãos governamentais, uma vez que a carência de técnicas modernas voltadas à produção de alimentos evidencia, na maioria dos casos, os problemas relativos à qualidade final do produto para o consumidor (CARVALHO FILHO, 1995; BALBINI, 2001).

Em relação ao assunto, os órgãos mundiais de saúde atentam para a necessidade de combater a contaminação de alimentos por agentes biológicos que causam doenças (CARVALHO FILHO, 1995; BALBINI, 2001). Dessa forma, é necessária a realização de análises microbiológicas para se obter informações mais aprofundadas sobre as condições de higiene durante sua produção, processamento, armazenamento e consumo (FRANCO, 2010).

De acordo com Uboldi (1989), o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e a ocorrência de reações químicas e enzimáticas indesejáveis são os principais fatores que interferem na conservação da polpa de frutas, ou seja, que indicam a qualidade e a inocuidade de alimentos. Por serem considerados, em sua grande maioria, alimentos ácidos, apresentam a microbiota deterioradora restrita, especialmente, a patógena.

A microbiota presente nesses alimentos constitui-se de bolores, leveduras, bactérias lácticas e outros microrganismos ácidos tolerantes, como bactérias acéticas, *Zymomonas* e algumas espécies de *Bacillus,* que geralmente são sensíveis ao calor (SIQUEIRA; BORGES, 1997).

No Brasil, o Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento (MAPA), por meio da Instrução Normativa nº 1, de 07 de janeiro de 2000, determina os Padrões de Identidade e Qualidade (PQIs) mínimos para as polpas de frutas, estabelecendo os valores máximos para a soma de bolores e leveduras de $5x10^3$ UFC g-1 para polpa *in natura*, congelada ou não, e $2x10^3$ UFC g-1 para polpa conservada quimicamente (BRASIL, 2000).

A Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), aprova o regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos exigidos para os alimentos, estabelecendo o valor máximo de 10^2. $UFC.g^{-1}$ para os coliformes de origem fecal e ausência de *Salmonella* sp.; não estabelece, porém, os padrões para os bolores e as leveduras (BRASIL, 2001).

Os tratamentos agroindustriais, como a pasteurização, a liofilização e o uso da cadeia do frio ainda hoje são os meios mais utilizados para garantir a conservação da polpa e para a adequação aos padrões mínimos de identidade e qualidade estabelecidos pela legislação (FELLOWS, 2006).

A pasteurização é um tratamento térmico relativamente suave, efetuado em temperaturas iguais ou inferiores a 100°C, utilizado com o objetivo de prolongar a vida útil dos alimentos. Esse processo, que os conserva por inativação enzimática e destruição dos microrganismos termossensíveis, é responsável por alterações mínimas, em níveis do valor nutritivo e das características sensoriais do produto (FELLOWS, 2006).

O binômio tempo X temperatura e a escolha do processo não dependem apenas dos fatores intrínsecos e extrínsecos ligados aos microrganismos, como o pH, mas, também, do efeito que o calor exercerá sobre o produto e da aplicação posterior de outra técnica de conservação como por exemplo, a refrigeração. Além, disso, é imprescindível considerar outros fatores, tais como: a dimensão e forma das embalagens, a velocidade de penetração do calor, entre outros (CAMARGO et al., 1982).

A criodesidratação, conhecida como liofilização, é considerada um dos melhores métodos para remover água dos alimentos. O método consiste na remoção do gelo por sublimação, ou seja, a água congelada no material passa diretamente da fase sólida para a fase gasosa, sem passar pela fase líquida. O princípio baseia-se no controle das variáveis de pressão e temperatura, que possibilitam a mudança direta para fase gasosa (FELLOWS, 2006).

3.5. Compostos voláteis

Os frutos oferecem um mundo variado de sabores, cores e odores e podem oferecer experiências sensoriais bastante gratificantes. Certos vegetais são aromáticos ou simples odorantes pela sua capacidade de fabricar moléculas complexas que a indústria química se esforça para reproduzir, muitas vezes, sem sucesso.

O sabor é o resultado entre as sensações do aroma e do gosto, sendo a do gosto atribuída aos compostos não voláteis (açúcares, sais e ácidos, responsáveis pelos quatro gostos básicos: salgado, doce, amargo e ácido).

O aroma, por sua vez, é constituído por dezenas e centenas de compostos voláteis. Mottram (1993) acredita que a percepção pelo olfato, reflexo do aroma, seja mais sensível do que pelo paladar, atribuída pela sensação do sabor.

Sintetizados pelas espécies vegetais, os compostos voláteis são misturas compostas por diversas moléculas com propriedades aromatizantes, extraídas de diferentes partes das plantas, tais como raízes, flores, frutos, sementes, madeira e cascas (BAKKALI et al., 2008; MARQUES et al., 2012; PERRIN; COLSON, 1987; REGNAULT-ROGER; VINCENT; ARNASON, 2012).

Cada família vegetal oferece uma gama variada de aromas; algumas são reconhecidas por um aroma característico, como é o caso das mirtáceas, cujas folhas e frutos são intensamente aromáticos (RYNAL; AUBAILE-SALLENAVE, 1988).

Os compostos voláteis estão relacionados a diversas funções necessárias à sobrevivência vegetal, e exercem papel fundamental na defesa contra microrganismos (SIANI et al., 2000). Sabe-se que aproximadamente 60% dos compostos voláteis possuem propriedades antifúngicas e 35% exibem propriedades antibacterianas (BHAVNANI; BALLOW, 2000), o que explica também o grande interesse econômico que apresentam.

Além dessas funções, Holzke et al. (2006) mostraram a ação dos compostos voláteis na regulação da perda de água pela planta e no controle da variação da temperatura das suas folhas e dos meristemas, ressaltando que tais substâncias exercem importante papel na ecologia vegetal, além de funções fisiológicas fundamentais.

A estrutura desses compostos é formada por misturas de diversas moléculas orgânicas em diferentes proporções, constituídas pelos seguintes elementos: carbono, oxigênio e hidrogênio (tais como hidrocarbonetos, ácidos carboxílicos, acetatos, álcoois, ésteres, aldeídos, cetonas e fenóis).

O conhecimento dos compostos químicos responsáveis pelo sabor e aroma justifica-se pela importância que desempenham na qualidade dos frutos e seus produtos (NARAIN et al., 2004), além do alto nível técnico atingido na sua preparação e seu elevado valor econômico para as indústrias de aromatizantes alimentares, fármaco-cosméticos, entre outras, que absorvem quase a totalidade das essências naturais e seus respectivos derivados.

A crescente busca pela melhoria na qualidade de vida, por meio dos produtos alimentícios “naturais” a serem consumidos é a principal causa de o aroma ser um

importante parâmetro usado pelo consumidor para aceitar ou a rejeitar um produto. Segundo (MARÓSTICA, 2006), os alimentos isentos de aditivos químicos possuem um apelo diferenciado no mercado atual.

De acordo com a Resolução RDC n. 2, de 15 de janeiro de 2007, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que aprova o Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes, os aromatizantes/aromas “são substâncias ou misturas de substâncias com propriedades odoríferas e ou sápidas, capazes de conferir ou intensificar o aroma e ou sabor dos alimentos”.

Os aromatizantes classificam-se em naturais ou sintéticos, sendo os aromatizantes naturais assim definidos pela RDC nº 2: “são obtidos exclusivamente por métodos físicos, microbiológicos ou enzimáticos, a partir de matérias-primas aromatizantes naturais. Entende-se por matérias-primas aromatizantes naturais os produtos de origem animal ou vegetal, aceitáveis para consumo humano, que contenham substâncias odoríferas e ou sápidas, seja em seu estado natural ou após um tratamento adequado, como: torrefação, cocção, fermentação, enriquecimento, tratamento enzimático ou outros”.

Entre as técnicas utilizadas para o isolamento de compostos voláteis, a técnica do *headspace* é utilizada para analisar compostos em baixas concentrações. Destaca-se pelos seus requisitos importantes, como a mínima manipulação da amostra, o isolamento e o enriquecimento de voláteis à temperatura ambiente, evitando a destruição da amostra, além de apresentar custo baixo e configuração simples.

A análise do *headspace* da fruta é função da concentração e da pressão de vapor dos compostos voláteis presentes. Existe, porém, uma complexa interação destes fatores com todos os componentes da matriz da fruta, principalmente, lipídeos, carboidratos e proteínas (ROOS et al., 1997).

No modo estático, a amostra é armazenada e selada em um frasco hermético e os analitos voláteis são coletados no *headspace* do frasco, após se atingir o equilíbrio de volatilização, por meio da microextração em fase sólida (*Solid Phase Micro Extration - SPME*).

Após a captura na armadilha, os compostos voláteis são determinados de forma direta. Isto possibilita a sua separação, por meio da introdução da amostra sem pré-tratamento, no cromatógrafo gasoso de alta eficiência, com o uso de coluna capilar.

A união do cromatógrafo a gás (CG) com o espectrômetro de massas (EM) representa uma ferramenta eficaz na separação e na identificação de compostos provenientes de misturas complexas, sendo que estas técnicas são muito convenientes e úteis na análise de aromas.

3.6. Análise sensorial

Os diferentes tipos de processamento podem alterar significativamente as características sensoriais originais do produto, sendo necessário o seu levantamento e a sua avaliação para se obter a melhor adequação do processo.

A Análise Sensorial foi definida como disciplina científica em 1975 pelo *Institute of Food Tecnology* (IFT). Foi conceituada também pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1993) como a disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais, bem como para verificar como os sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição.

Por meio das ferramentas provenientes da análise sensorial, pode-se determinar a aceitabilidade e qualidade dos alimentos, com auxílio dos órgãos humanos dos sentidos. Sua utilização se estende desde a equipe sensorial na indústria até a análise do efeito da embalagem no produto, além do monitoramento e melhoramento de novos produtos no mercado.

Os métodos de avaliação sensorial podem ser divididos em:

a) Métodos discriminativos ou métodos de diferença: servem para determinar se as amostras que sofreram diferentes tratamentos diferem sensorialmente entre si;

b) Métodos descritivos ou métodos analíticos: envolvem tanto a discriminação como a descrição dos atributos sensoriais de um produto. Usualmente, os vários métodos analíticos são descritivos (porque descrevem as amostras em termos sensoriais) e quantitativos (porque avaliam numericamente a intensidade de cada atributo);

c) Métodos afetivos: avaliam a preferência ou aceitação de um produto junto ao mercado consumidor.

Para tanto, recomenda-se efetuar uma análise de diferença e uma análise afetiva para as polpas processadas de cambuci, para detectar certas particularidades sensoriais que não podem ser percebidas por meio de outros procedimentos analíticos e, ainda, por possibilitarem a avaliação da aceitação do produto (MUÑOZ et al., 1992).

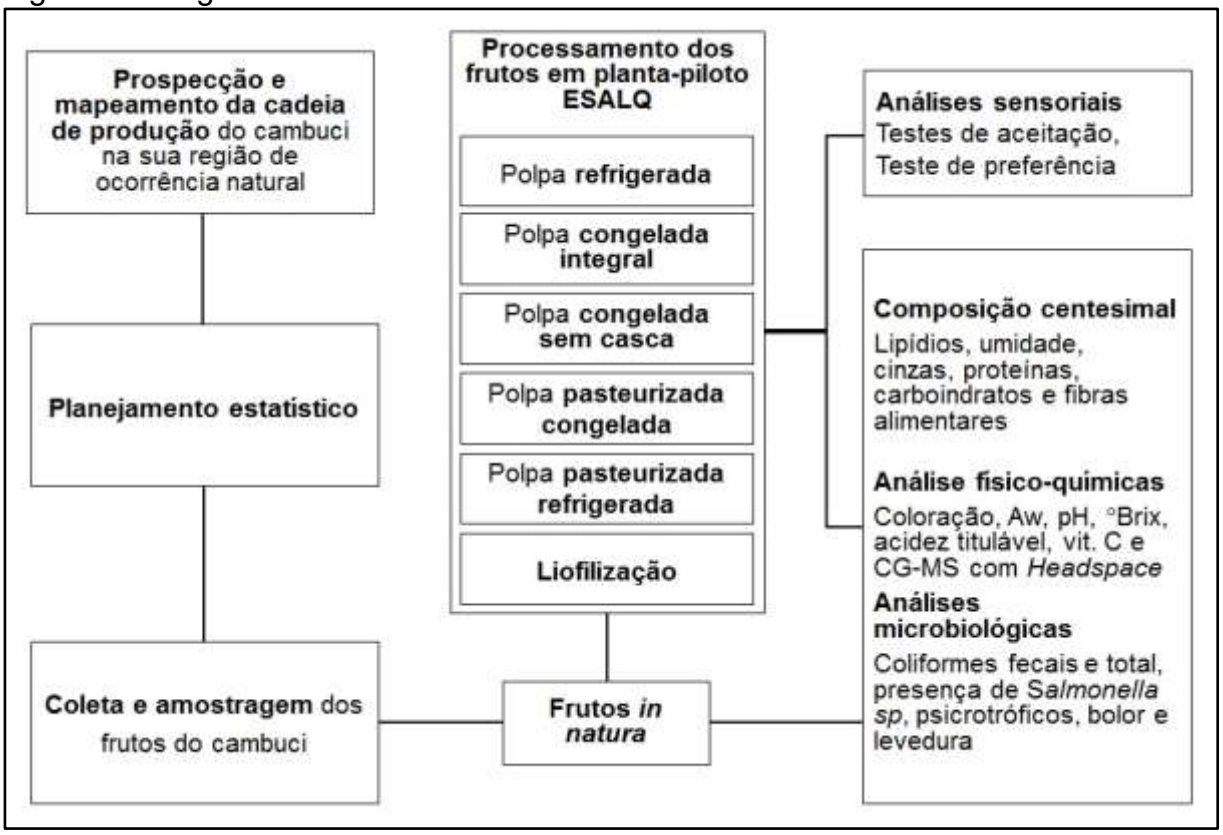
Com o emprego do teste de diferença, os provadores avaliarão como um determinado atributo sensorial varia entre os diferentes processamentos sofridos pela polpa de cambuci, determinando também, o grau dessa variação.

Pela aplicação do teste de aceitação, é possível transformar dados subjetivos em objetivos e obter informações importantes sobre o grau com que as pessoas gostam ou não de um determinado produto (STONE; SIDEL, 1993).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Frutas e Hortaliças, do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ/USP, em Piracicaba, SP, em parceria com o Centro de Genética, Biologia Molecular e Fitoquímica, do Instituto Agronômico, em Campinas, SP, e com o Laboratório de Pós-colheita da Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP de acordo com do Diagrama a seguir (figura 6).

Figura 6 - Diagrama de desenvolvimento do trabalho



4.1. Seleção dos sítios de amostragem

A principal região em que foram encontrados os povoamentos significativos cultivados da espécie *Campomanesia phaea* está limitada ao bioma da Mata Atlântica, nas áreas de influência da Serra do Mar, tendo como centro de dispersão natural o trecho do Planalto Paulista, incluindo a região metropolitana da cidade de São Paulo, e, estendendo-se pela vertente ocidental da Serra do Mar, até o litoral, abrangendo os municípios de Bertioga, Caraguatatuba, São Sebastião e Ubatuba.

Apesar de existirem relatos de diversos autores que observaram a ocorrência de *C. phaea* fora do estado de São Paulo como, por exemplo, em Minas Gerais e no

Rio de Janeiro, entre outros, em que ocorre o bioma da Mata Atlântica, pode-se inferir que a presença natural dessa espécie não é significativa, em termos de produção comercial. Provavelmente, a sua ocorrência se deve a eventuais dispersões zoocóricas dos frutos nesses locais.

O material vegetal destinado às análises químicas, físicas, nutricionais e sensoriais foi adquirido com recursos do Projeto de Auxílio à Pesquisa (FAPESP nº 2014/07338-0), obtido por meio de coletas ao acaso, de maneira que fosse representativa da região objeto de projeto.

O principal critério observado para a delimitação da região objeto de estudo foi a existência de comunidades organizadas em torno da produção, manejo e comercialização do fruto e seus produtos (bebidas, polpas, geleias etc.).

A coleta dos frutos do cambuci (*Campomanesia phaea*) foi realizada em pomares comerciais, que trabalhavam com sistemas agroflorestais e/ou em pomares convencionais destinados à produção comercial da fruta, ou derivados obtidos a partir dela. Os diversos fornecedores (produtores) estavam estabelecidos nas proximidades de comunidades locais na Serra do Mar, no estado de São Paulo, incluindo os municípios de Natividade da Serra, Caraguatatuba, Paraibuna, São Lourenço da Serra e Salesópolis, todos pertencentes ao estado de São Paulo.

Para realização dos pré-testes que incluíram a padronização da metodologia, realização de análises preliminares e testes dos equipamentos, foram realizadas uma série de coletas, no período de 06 a 20 de abril de 2015, totalizando 300 Kg de frutos do cambuci (*Campomanesia phaea*).

Para o início das análises propostas, foram realizadas coletas no período de 04 de maio a 19 de maio de 2015, totalizando 400 Kg de frutos do cambuci (*Campomanesia phaea*).

O material coletado foi acondicionado em sacos simples de polietileno com capacidade para um quilograma e armazenado em câmara fria, sob refrigeração à 5ªC, existente no Sítio Recanto dos Pássaros, de propriedade do Sr. Paulo Nakanish, situado à Estrada da Favorita, em Natividade da Serra, SP (Figuras de acervo pessoal 7, 8, 9, 10, 11 e 12).

O material foi encaminhado em veículo refrigerado ao Laboratório da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), em Piracicaba (SP) para o processamento na planta-piloto, instalada no Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição daquela instituição.

Figura 7 - Vista geral da região de amostragem da espécie objeto de estudo, em Paraibuna (SP)

Figura 8 - Câmara de refrigeração onde ficou armazenado o material coletado, até atingir o volume necessário às análises

Figura 9 - Aspecto do carregamento do material em caixas térmicas para o transporte até o laboratório

Figura 10 - Seleção das áreas objeto de coleta

Figura 11 - Interior da câmara de refrigeração, observando-se o material coletado (amostras compostas provenientes de diferentes fornecedores regionais)

Figura 12 - Frutos armazenados a baixa temperatura, no laboratório da ESALQ-USP, em Piracicaba (SP)

4.2. Processamento da polpa

Todos os processamentos foram realizados em ambiente higienizado, com desinfetante clorado e etanol a 70%. Os manipuladores estavam devidamente paramentados com os equipamentos de segurança individual, como touca, máscaras, luvas e jalecos descartáveis e botas de segurança.

4.2.1. Seleção, lavagem e higienização

A matéria-prima (frutos) foi selecionada quanto à dimensão, cor, aparência e sanidade e, posteriormente, lavada em água corrente. Em seguida, foi realizada a higienização, por meio da imersão dos frutos em solução de cloro a 200 mg L-1 (Dicloro Isocianurato de Sódio Dihidratado – 3% de cloro ativo) durante quinze minutos (Figura 13).

Figura 13 - Operações de lavagem e higienização dos frutos do cambuci

Foto: Acervo pessoal.

4.2.2. Descascamento manual

Após a sanitização, os frutos sofreram a retirada manual da película externa. Essa etapa foi realizada naqueles destinados ao tratamento da polpa “congelada sem casca”.

4.2.3. Desintegração do fruto

Durante a realização do pré-teste foi verificado que não seria possível a utilização de uma despolpadora, pois a fina película envoltória dos frutos e suas sementes prejudicavam o funcionamento do equipamento. Optou-se pela desintegração do fruto em liquidificador industrial, obtendo-se um resultado satisfatório para obtenção da polpa do fruto (Figura 14).

Figura 14 - Aspectos do processamento dos frutos de cambuci

Fonte: Acervo pessoal.

4.2.4. Tratamentos efetuados

Foram realizados os seguintes tratamentos descritos a seguir:

4.2.4.1. Pateurização+congelamento: Pasteurização da polpa obtida a partir da desintegração do fruto integral seguida de congelamento

4.2.4.2. Pateurização+refrigeração: Pasteurização da polpa obtida a partir da desintegração do fruto integral seguida de refrigeração

4.2.4.3. Congelamento integral: Congelamento da polpa obtida a partir da desintegração do fruto integral

4.2.4.4. Congelamento sem casca: Congelamento da polpa obtida a partir da desintegração do fruto sem casca

4.2.4.5. Refrigeração: Refrigeração da polpa obtida a partir da desintegração do fruto integral

4.2.4.6. Liofilização: Liofilização da polpa obtida a partir da desintegração do fruto integral

- **Pasteurização**

A pasteurização foi realizada em equipamento Pasteurizador Tubular para polpa de fruta da marca *Suma Indústria e Comércio Ltda*., vazão 200 L/H. O equipamento em questão (Figura 16) foi adquirido com recursos do Projeto de Auxílio à Pesquisa FAPESP nº 2014/07338-0 e está instalado na Planta-Piloto do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ-USP, em Piracicaba.

Os testes para a escolha dos parâmetros da pasteurização foram baseados no seguinte parâmetro: binômio tempo x temperatura de 85ºC / 30s. Para a verificação da eficácia do tratamento, a polpa foi submetida as análises: presença de *Salmonella* sp.; Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e coliformes termotolerantes; contagem total de bolores e leveduras; e contagem de microrganismos psicrotróficos. Os resultados obtidos atenderam aos parâmetros mínimos de diminuição da carga microbiana do produto processado.

Em seguida, a polpa foi envasada em embalagens de polietileno tereftalato (PET) metalizado virgem e natural, atóxico, próprio para o contato com produtos alimentícios, com dimensões 150 mm X 200 mm X 0,22 mm (Figura 15), fornecido pela empresa *Embraquim Indústria e Comércio Ltda*. e armazenadas, considerando-se as seguintes condições:

- Polpas pasteurizadas a 85°C, durante trinta segundos e refrigeradas à temperatura de 5°C.
- Polpas pasteurizadas a 85°C, durante trinta segundos e congeladas à temperatura de -18°C.

Figura 15 - Embalagem utilizada para o acondicionamento das polpas do cambuci

Foto: Acervo pessoal.

Figura 16 - Pasteurizador tubular vazão 200 L/H

Foto: Acervo pessoal.

- **Congelamento integral, congelamento sem casca e refrigeração**

A polpa recém-extraída foi envasada em embalagens PET descritas anteriormente (Figura15), fornecido pela empresa *Embraquim Indústria e Comércio Ltda*. e acondicionada de acordo com o seu tratamento:

- Refrigeração: Após o envase, a polpa foi acondicionada à temperatura de 5°C em ambiente refrigerado.
- Congelamento: acondicionada à temperatura de -18°C em ambiente sob congelamento.
- Congelamento sem casca: acondicionada à temperatura de -18°C em ambiente sob congelamento.

- **Liofilização**

A polpa de cambuci foi submetida ao tratamento de liofilização na empresa *Liotecnica*™, de Embu das Artes, SP, seguindo os parâmetros por ela estabelecidos. Em seguida, a polpa foi acondicionada em embalagem de polietileno tereftalato (PET) metalizado, descrita anteriormente, fornecida pela empresa *Embraquim Indústria e Comércio Ltda.* (figura 15) e armazenadas à temperatura ambiente.

4.3. Composição centesimal

Para se efetuar a caracterização nutricional do fruto *in natura,* foram analisados três diferentes pontos do material amostrado, com a finalidade de garantir a melhor amostragem.

Antes das análises de lipídios, cinzas, fibra alimentar e proteínas, os frutos *in natura* e as polpas processadas passaram por processo de secagem, em estufa à temperatura de 90ºC, seguido de trituração em moinho analítico. Posteriormente, foram acondicionadas em potes de vidro, até o momento da realização das análises, descritas a seguir.

4.3.1. Umidade

A determinação do teor de umidade foi obtida segundo metodologia 950.46, descrita pela (AOAC, 2005), método gravimétrico a partir do qual é avaliada a perda de massa da polpa, quando submetida a aquecimento à temperatura de 105ºC em estufa, até atingir peso constante.

4.3.2. Cinzas (% base úmida)

O teor de cinzas foi determinado pelo método 940.26, descrito pela (Aoac, 2005), no qual se obtém o resíduo mineral fixo por gravimetria, incinerando a amostra em forno mufla, regulado à temperatura de 550ºC, pelo período aproximado de 48 horas, até a formação de uma cinza branca. Após o resfriamento à temperatura ambiente em dessecador, os cadinhos tiveram seus pesos determinados, calculando-se o teor de cinzas.

4.3.3. Lipídios (% base úmida)

A determinação do teor de lipídios foi realizada por meio da extração direta, com solvente hexano no aparelho de *Soxhlet*, de acordo com as instruções do Instituto Adolfo Lutz - IAL (2005). As amostras foram pesadas em papel-filtro, e acopladas em aparelho extrator *Soxhlet*. A extração se manteve contínua por seis horas. Após essa etapa, os balões foram colocados em estufa à temperatura de 105ºC, por aproximadamente doze horas. Os balões foram, então, resfriados à temperatura ambiente em dessecador e pesados. Finalmente, calculou-se a porcentagem de lipídios das amostras.

4.3.4. Proteínas (% base úmida)

O teor proteico da polpa foi determinado pelo método Microkjeldahl, de acordo com a AOAC, 1997 (método nº 620.2), que se baseia na decomposição da matéria orgânica pela digestão da amostra à temperatura de 350ºC, com ácido sulfúrico concentrado, em presença de sulfato de cobre como catalisador, que acelera a oxidação da matéria orgânica.

4.3.5. Fibra alimentar (%):

O teor de fibra foi obtido pela soma das frações solúvel e insolúvel e determinada de acordo com o método 991.43, descrito pela AOAC (2005), que se baseia na digestão enzimática das fibras. Após a etapa de digestão enzimática com α-amilase, pepsina e pancreatina, as amostras foram separadas em fibra insolúvel e solúvel, por meio de filtragem. Os cadinhos de vidro utilizados na filtragem foram colocados em estufa a 105°C, sendo o seu peso determinado posteriormente. Por último, as amostras foram incineradas em forno mufla, à temperatura de 550°C por cinco horas.

4.4. Análises físico-químicas

Para se efetuar a caracterização do fruto *in natura* do cambuci e para se efetuar o acompanhamento da vida útil da polpa processada, nos períodos um, quinze, trinta, quarenta e cinco, sessenta, setenta e cinco e noventa dias de armazenamento foram realizadas as avaliações físico-químicas descritas a seguir.

4.4.1. pH

A determinação do pH foi realizada em triplicata, em potenciômetro da marca Marconi – MA-522 (Piracicaba, SP, Brasil), segundo o método nº 981.12, da AOAC (2005).

4.4.2. Acidez titulável

O teor de acidez foi determinado por titulometria, a partir do volume em mililitros de NaOH 1N, e auxílio de pHmetro digital, segundo método nº 942.15, da AOAC (2005). Os resultados foram expressos em mg de ácido cítrico g^{-1} amostra.

4.4.3. Teor de sólidos solúveis (°Brix)

O teor de sólidos solúveis foi quantificado por meio de leituras diretas da polpa, em refratômetro digital da marca *Krüss Optronic* GmbH, modelo DR201-95 (Hamburgo, Alemanha), segundo método 932.12, da AOAC (2005). Os resultados foram expressos em escala °Brix, de 0 a 100.

4.4.4. Relação sólidos solúveis/acidez titulável (*ratio*):

Foi calculada por meio da relação entre o teor de sólidos solúveis e acidez titulável.

4.4.5. Atividade de água (Aa)

A determinação de atividade de água foi obtida por meio da medida direta das amostras de polpa em equipamento da marca *TESTO* – modelo 650 (Lenzkirch, Alemanha), por meio do princípio de “ponto de orvalho em espelho resfriado”. A polpa foi colocada diretamente no compartimento, realizando-se cinco leituras em triplicata em diferentes pontos de cada amostra.

4.4.6. Ácido L-ascórbico:

As análises foram realizadas com auxílio da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Instrumentação), em São Carlos, estado de São Paulo. O método aplicado foi descrito por (Bresolin e Hubinger, 2014). As amostras foram processadas à volume conhecido com ácido metafosfórico a 3% (w/v), filtrados em

filtro descartável de Teflon hidrofílico (0,45 μM porosidade), sendo, posteriormente colocadas em frascos.

O ácido L-ascórbico foi identificado com a utilização de uma coluna *Agilent C18* (2,5 x 25 mm, 5 mm), e tampão de fosfato a pH 2,5 como fase móvel. O cromatógrafo líquido utilizado foi o modelo *Varian* com detector Ultravioleta-Visível ajustado para leitura a 254nm. A vazão da fase móvel foi de 1,0 mL/min e o volume de injeção de 20µL. O ácido L-ascórbico (pureza ≥ 99,0%) usado como padrão foi obtido da empresa *Sigma Life Science* e os demais reagentes obtidos da empresa Merck *CO*. Todo o experimento foi realizado em triplicata.

4.4.7. Coloração (L*, ângulo de cor Hue e cromaticidade)

As mudanças na coloração, brilho e saturação das cores foram obtidas por meio de medidas diretas no equipamento *Minolta Chroma Meter* CR-400 (MINOLTA, 1998), utilizando-se o sistema CIE L*C*H.

4.5. Caracterização dos compostos voláteis

4.5.1. Captura e análise dos aromas da fruta do cambuci e da polpa processada:

Após o processamento, as amostras de polpa e dos frutos foram encaminhadas ao Laboratório do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos Vegetais, Unidade de Fitoquímica, do Instituto Agronômico (IAC), em Campinas (SP).

Foram utilizados frutos de *Campomanesia phaea* (cambuci) *in natura* e a polpa processada de diferentes formas: refrigerada, congelada integral, congelada sem casca, pasteurizada refrigerada, pasteurizada congelada e liofilizada.

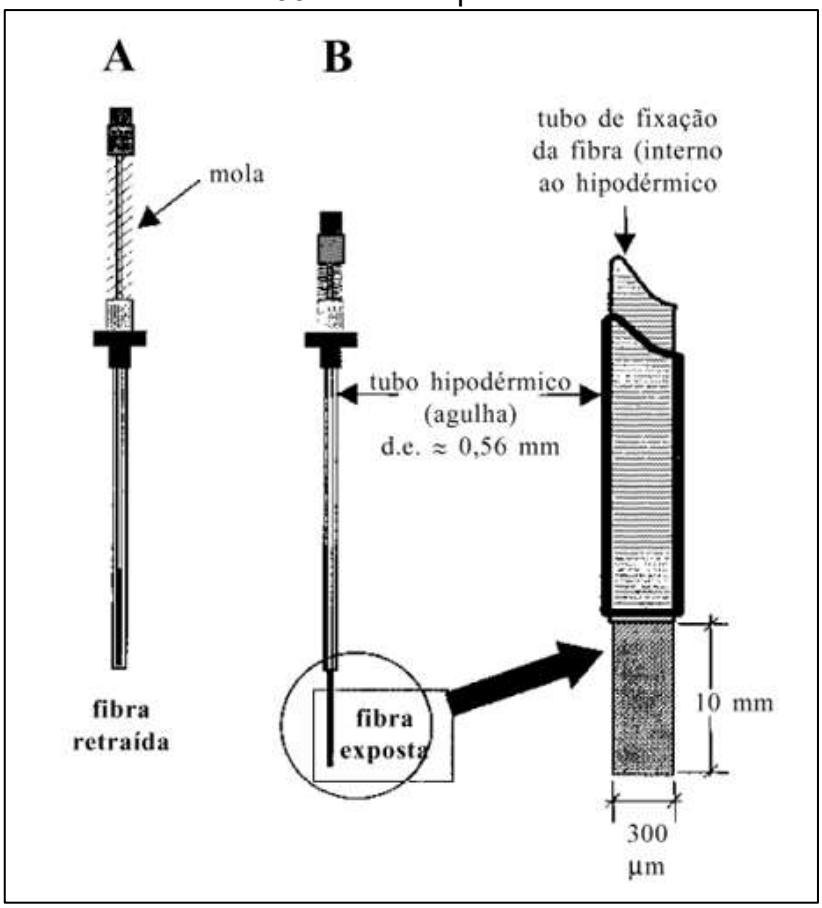
4.5.2. Preparo e recondicionamento das armadilhas

A extração dos compostos voláteis foi efetuada pela técnica de *headspace* estático, utilizando o preparado a partir da polpa do fruto dos diferentes processamentos, de acordo com a metodologia descrita por Franco et al. (2004). O preparado foi obtido pela mistura de 150 g de polpa com água destilada na proporção 1:2 (p:v), adicionando-se 30% (p/p) de NaCl, para inibir possíveis reações enzimáticas.

A solução foi armazenada em frasco de vidro com tampa rosqueável e septo selada em um frasco hermético e os analitos voláteis foram coletados no *headspace* do frasco por meio da microextração em fase sólida (SPME).

O dispositivo básico (Figura 17) utilizado para a captura dos voláteis consiste de um bastão de fibra ótica, de sílica fundida (FS), com aproximadamente 100 mm de diâmetro, e 10 mm de uma extremidade recoberta por um filme fino de um polímero (por exemplo: polidimetilsiloxano = PDMS, poliacrilato = PA ou Carbowax = Cwx), ou de um sólido adsorvente (carvão ativo microparticulado = Carboxen).

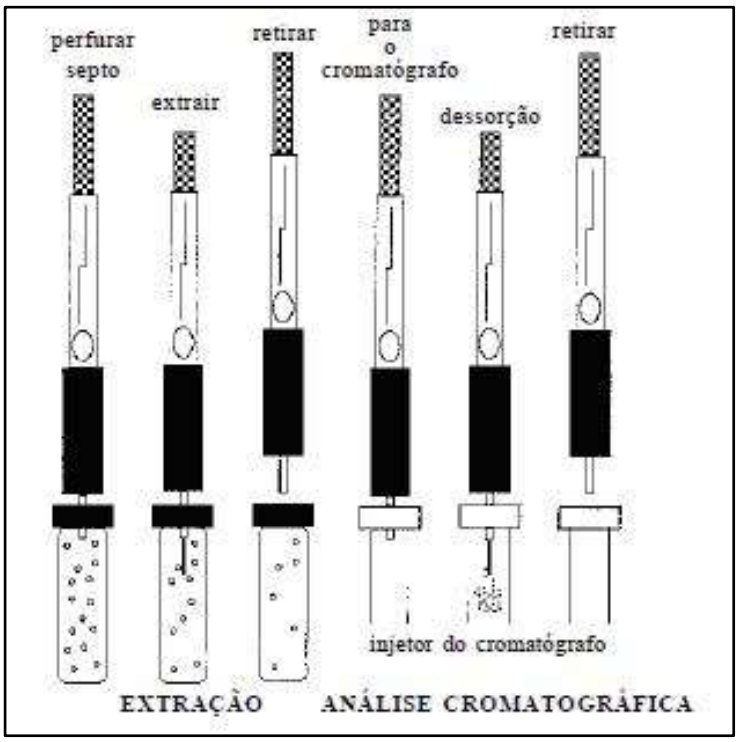
Figura 17 - Dispositivo da fibra de SPME: (A) Posição com a fibra retraída na agulha; (B) posição com a fibra exposta. No detalhe, são apresentadas as dimensões típicas da seção com recobrimento de 100 mm de espessura.



A solução foi mantida sob agitação com o auxílio de um agitador magnético e barra magnética a temperatura de 40ºC, a fibra foi exposta no centro do headspace e os compostos voláteis extraídos por período de trinta minutos empregando-se a fibra PDMS (polidimetilsiloxano, 100 µ, Supelco).

Após a extração a fibra foi retraída, a seguir exposta no injetor do cromatógrafo gasoso para a dessorção dos constituintes voláteis (Figura 18).

Figura 18 - Extração e dessorção de compostos voláteis com o uso da técnica de SPME



A análise qualitativa da composição química dos constituintes voláteis foi realizada por meio de cromatógrafo gasoso, acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM, Shimadzu, QP-5000), dotado de coluna capilar de sílica fundida OV-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm *Ohio Valley Specialty Chemical, Inc.),* operando por impacto de elétrons (70 eV.), hélio com gás de arraste (1,0 mL/min.), injetor à temperatura de 240° C, detector a 230° C, *split* 1/20 e o seguinte programa de temperaturas: 50ºC (2 minutos) - 240°C, 3°C/minuto.

A identificação das substâncias foi efetuada por meio da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist. 62 lib.), e índices de retenção de Adams (2007). Os índices de retenção (IR) das substâncias foram obtidos por meio da injeção de uma mistura-padrão de *n*-alcanos (C9-C20), aplicando-se a Equação de Van den Dool e Kratz (1963).

4.6. Análise sensorial

O trabalho de pesquisa foi enviado para avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), sendo aceito pela comissão, com CAAE nº 49156315.3.0000.5395.

A análise foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (ESALQ/USP) por 97 provadores, entre funcionários e alunos da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), de ambos os sexos, com faixa etária entre 18 e 65 anos.

4.6.1. Teste de aceitação com a utilização da escala hedônica

Para a aplicação do teste, as amostras foram casualizadas e codificadas com três dígitos aleatórios, a serem provadas da esquerda para a direita. A apresentação das amostras foi simultânea. Cada provador recebeu uma bandeja com quatro amostras, um copo de água e uma ficha de aplicação. Foi solicitado que eles avaliassem cada uma das amostras e, de acordo com a preferência, representassem na escala o quanto gostaram ou desgostaram da amostra, atribuindo-lhe um valor.

Na ficha de avaliação (Anexo A), converteram-se as categorias em pontos numéricos de 1 a 9, onde “1” representava “desgostei muitíssimo” e “9” representava “gostei muitíssimo”, segundo (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2007). Os pontos numéricos para cada amostra foram tabulados e analisados utilizando a Análise de Variância (ANOVA), para determinar se as amostras avaliadas diferiam significativamente entre si, no que dizia respeito à aceitação pelo consumidor.

4.6.2. Teste de diferença do controle

As polpas processadas foram avaliadas sensorialmente, empregando-se o teste de diferença, com escala de nove pontos para cada atributo sensorial (aparência, aroma, sabor, textura e impressão global). Os provadores avaliaram como um determinado atributo sensorial varia entre os diferentes processamentos sofridos pela polpa de cambuci (Anexo A).

4.7. Análise microbiológica

Foram realizadas as seguintes análises microbiológicas do fruto *in natura* e nas polpas antes e após serem submetidas aos tratamentos propostos: presença de *Salmonella* sp.; Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e coliformes termotolerantes; contagem total de bolores e leveduras; e contagem de microrganismos psicrotróficos.

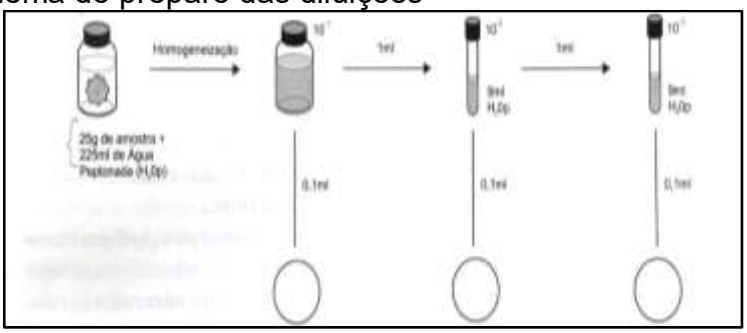
As análises microbiológicas nas polpas processadas foram realizadas a cada quinze dias, durante sete períodos constantes de armazenamento, totalizando noventa dias. Para cada um dos períodos avaliados, foi utilizada uma amostra indicativa do lote contendo dois quilos, de acordo com o preconizado pela resolução da Diretoria Colegiada (RDC), nº12, de 02 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa (BRASIL, 2001).

4.7.1. Preparo de materiais

Todos os materiais utilizados durante as análises foram previamente esterilizados em autoclave vertical à temperatura de 121ºC, por quinze minutos.

Para se efetuar as análises de contagem total de bolores e leveduras e contagem de coliformes totais e termotolerantes, as amostras da polpa foram previamente acondicionadas à temperatura ambiente. Em seguida, foram diluídas em uma solução de água peptonada tamponada 1% (H_2Op), conforme descrito na Figura 19.

Figura 19 - Esquema do preparo das diluições



Fonte**:** (Silva *et al.*, 2010).

4.7.2. Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e coliformes a 45ºC

A contagem de coliformes totais e de *E. coli* foi realizada com a utilização do kit *Simplate* (BIOCONTROL,2006), validado pela *Association of Official Analytical Chemists International* (AOAC, 2000). Essa metodologia se baseia na Tecnologia de Detecção Binária (BDT), que equaciona a presença de coliformes totais com a mudança de coloração do meio e a contagem de termotolerantes com a mudança de cor e fluorescência azulada devido à ação de enzima. A mistura da amostra com o meio foi adicionada na placa, e incubada por 24 horas. A contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes foi obtida pela contagem das cavidades que apresentavam mudança de cor (BIOCONTROL, 2006).

4.7.3. Contagem total bolores e leveduras

A contagem total de bolores e leveduras foi realizada de acordo com o método descrito por Downes e Ito (2001), baseado no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, determinando-se o número de unidades formadoras de colônias (UFC) pelo método de contagem-padrão em placas. O meio utilizado foi o Ágar Batata Dextrose (BDA) acidificado com ácido tartárico 10%, seguindo-se as instruções dadas pelo fabricante. Depois de se obter o meio solidificado, as placas foram incubadas de forma invertida por cinco dias em estufa, à temperatura de 25ºC.

4.7.4. Análise da presença de *Salmonella* sp.

As análises para a detecção de *Salmonella* sp. foram realizadas com o uso do *kit* "*1-2 test*", fabricado pela *BioControl*/USA, método oficial aprovado pela *Association of Official Analytical Chemists Internacional* (AOAC, 2000).

O preparo da análise de *Salmonella* spp. seguiu as orientações recomendadas pelo fabricante. A amostra permaneceu incubada à temperatura de 35ºC por 24 horas.

O resultado positivo foi indicado pela presença de imunobanda na metade superior do gel. A análise foi considerada negativa, quando nenhuma banda foi observada após a incubação por catorze horas, pelo menos (BIOCONTROL, 2006).

4.7.5. Contagem de microrganismos psicrotróficos

Para a determinação da ocorrência de microrganismos psicrotróficos nos diferentes tratamentos realizados, utilizou-se o meio Ágar Padrão de Contagem (PCA), seguindo-se as instruções do fabricante.

A análise foi realizada pelo método de contagem-padrão em placas, determinando o número de unidades formadoras de colônias (UFC/g de polpa). A diluição e o plaqueamento foram realizados da mesma forma de contagem de bolores e leveduras, diferenciando na incubação à temperatura de 7ºC por sete dias, com os resultados expressos pelo número de unidades formadoras de colônia por grama de amostra ($UFC.g^{-1}$).

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

No presente trabalho foi adotado o delineamento estatístico inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6 x 7, com três repetições, tendo como unidade experimental uma embalagem de produto, sendo: o primeiro fator correspondente ao produto elaborado (polpa congelada, polpa refrigerada, polpa pasteurizada congelada, polpa pasteurizada refrigerada e liofilizada); e o segundo fator correspondente ao período de armazenamento (um, quinze, trinta, quarenta e cinco, sessenta, setenta e cinco e noventa dias).

Os resultados referentes às análises físico-químicas foram avaliados pelo *software* estatístico *Statistical Analysis System*, versão 9.2 (SAS Institute, Cary, NC, USA), submetidos à análise de variância (ANOVA) para o teste F. A diferença estatística entre as médias, no nível de significância de 5%, foi determinada pelo teste de *Tukey*.

Os resultados referentes à análise sensorial foram tabelados em forma de notas para cada característica sensorial avaliada, para cada tratamento, em uma matriz de dupla entrada de provador *versus* tratamentos (MAGALHÃES, 1996). As análises dos resultados foram feitas por análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), por meio do *software* estatístico SAS, versão 9.2 (SAS, 2010).

As análises multivariadas de correlação e componentes principais (ACP) foram realizadas pelo programa *Statistical Analysis System* (SAS, 2010).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Composição centesimal

Na Tabela 1 são apresentados os resultados analíticos obtidos na caracterização do fruto de cambuci. Os resultados foram comparados aos valores encontrados por Vallilo et al. (2005) e Sanches (2013).

Tabela 1 - Composição centesimal do fruto de cambuci expresso em g.100 g-1 (%) de polpa na base seca e base úmida

Teor	Fruto *in natura* (base seca)	SANCHES, 2013 (base seca)	Fruto *in natura* (base úmida)	VALILO, 2005 (base úmida)
Umidade	87,86	87,03	87,86	88,80
Cinzas	2,17	2,25	1,61	0,23
Extrato etéreo	1,66	2,60	0,24	1,53
Proteínas	1,86	2,39	0,26	0,44
Fibra	44,14	15,60	4,97	4,00
Carboidratos disponíveis *	50,17	77,16	5,07	5,00

Valores médios
* Calculado por diferença

Os resultados obtidos para umidade, cinzas, extrato etéreo e proteínas do cambuci não apresentaram diferenças em relação aos encontrados por Sanches (2013). A umidade do alimento está associada a sua estabilidade, qualidade e composição, sendo um importante parâmetro de comercialização do produto.

O fruto *in natura* apresentou alto teor de umidade (87,86%), ficando próximo ao resultado obtido por Vallilo et al. (2005), de 88,80%.

Esse valor elevado de umidade retrata uma característica comum dos frutos da família das mirtaceaes, que são caracterizados como carnosos e suculentos (LEGRAND; KLEIN, 1977).

As diferenças apresentadas entre os dados obtidos nestas análises e aqueles relatados por Vallilo et al. (2005), com exceção à umidade e aos carboidratos disponíveis, podem ser consequência do espaçamento de plantio nos anos das safras analisadas (origem), nas técnicas de manejo, variações intraespecíficas das espécies, entre outras, além de possíveis fontes de variações climáticas entre os anos de 2005 e 2014.

Nas Tabelas 2 e 3 são apresentados os resultados analíticos obtidos na caracterização do fruto de cambuci e para a polpa após os diferentes processamentos: polpa pasteurizada congelada, polpa pasteurizada refrigerada, polpa congelada integral, polpa congelada sem casca, polpa refrigerada e polpa liofilizada.

Tabela 2 - Composição centesimal do fruto de cambuci e da polpa pasteurizada congelada, pasteurizada refrigerada, congelada integral, congelada sem casca, refrigerada e liofilizada, expressa em g 100 g^{-1} (%) de polpa na base seca

	Fruto *in natura*	Polpa pasteurizada congelada	Polpa pasteurizada refrigerada	Polpa congelad a integral	Polpa congelada sem casca	Polpa refrigerada	Polpa liofilizada
Cinzas	2.17a	1.85bc	1.98 b	1.74c	1.84bc	1.98 b	2.15 a
Proteínas	1,86c	2,72a	2,15cb	2,34ab	2,31abc	2,32abc	1,94bc
Extrato etéreo	1,66a	1,06b	0,63cd	0,42cd	0,31d	0,40cd	0,68c
Fibra	44,14b	40,76c	45,18ab	43,49bc	44,33ab	45,13ab	47,24a
Carboidratos disponíveis *	50,17c	53,61a	50,06c	52,01b	51,21bc	50,17bc	47,99d

Valores médios seguidos do desvio padrão
*Calculado por diferença
Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05)

Tabela 3 - Composição centesimal do fruto de cambuci e da polpa pasteurizada congelada, pasteurizada refrigerada, congelada integral, congelada sem casca, refrigerada e liofilizada, expressa em g 100 g^{-1} (%) de polpa na base úmida.

	Fruto *in natura* (base úmida)	Polpa pasteurizada congelada	Polpa pasteurizada refrigerada	Polpa congelada integral	Polpa congelada sem casca	Polpa refrigerada	Polpa liofilizada
Umidade	87,86 b	85,92 c	85,91c	89,22 ab	89,71a	88,29ab	9,66d
Cinzas	1,61 ± 0,08	1,34 ± 0,05	1,43 ± 0,03	1,29 ± 0,06	1,36 ± 0,06	1,46 ± 0,06	1,64 ± 0,11
Proteínas	0,26 ± 0,04	0,43 ± 0,03	0,34 ± 0,01	0,29 ± 0,03	0,29 ± 0,03	0,33 ± 0,02	2,15 ± 0,07
Extrato etéreo	0,24 ± 0,05	0,17 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,75 ± 0,10
Fibra	4,97 ± 0,52	6,47 ± 0,26	5,60 ± 0,20	4,86 ± 0,17	4,59 ± 0,03	4,56 ± 0,19	32,68 ±0,05
Carboidratos disponíveis*	5,07 ± 0,83	5,66 ± 0,31	6,61 ± 0,22	4,29 ± 0,10	4,01 ± 0,05	5,31 ± 0,14	53,12 ± 0,10

Valores médios seguidos do desvio padrão
*Calculado por diferença

O teor de umidade para os tratamentos da polpa refrigerada e da polpa congelada integral não diferiram significativa ao nível de 5% em relação ao fruto *in natura*, enquanto os demais tratamentos apresentaram diferença. Entre as polpas pasteurizadas congeladas e refrigeradas não foi encontrada diferença significativa e observou-se uma pequena diminuição na umidade. Este fato, provavelmente, é resultante do processo de aquecimento ao qual foi submetida a polpa durante o processamento de pasteurização.

A polpa congelada sem casca apresentou o maior percentual de umidade 89,71%, o que pode ser explicado pela extração da casca, levando à diminuição da massa sólida da polpa e resultando em aumento percentual de umidade.

A polpa de cambuci submetida ao processo de desidratação (liofilizado) apresentou o menor teor de umidade, 9,66%. Este valor está em conformidade com a Resolução RDC nº 273, de 22 de setembro de 2005, que preconiza ser de 25% no máximo, o teor de umidade para os produtos de frutas secas ou desidratados (BRASIL, 2005).

O maior teor de cinzas, 2.17g/100g, foi encontrado no fruto *in natura* e não difere significativamente a 5% do valor encontrado para o tratamento liofilizado, 2.15g/100g. O teor de proteínas permaneceu similar após os tratamentos de pasteurização + refrigeração, congelamento sem casca, refrigeração e liofilização. O teor de fibras permaneceu similar após os tratamentos pasteurização + refrigeração, congelamento sem casca, congelamento integral e refrigeração.

A polpa pasteurizada refrigerada, congelada sem casca e a refrigerada apresentaram valores similares para cinzas, extrato etéreo, proteínas, fibras e carboidratos. A polpa congelada integral não apresentou diferença significativa, quando comparada aos tratamentos citados acima, com exceção ao teor de cinzas, que somente se manteve próximo ao tratamento da polpa congelada sem casca.

6.2. Análises físico-químicas

6.2.1. Fruto do cambuci

Os resultados das análises físico-químicas do fruto proveniente da espécie cambuci são demonstrados na Tabela 4.

Tabela 4 - Caracterização físico-química do fruto de cambuci

VARIÁVEL	
pH	2,96 ± 0,04
Acidez (%ácido cítrico)	2,97 ± 0,16
Sólidos Solúveis (°Brix)	9,20 ± 0,2
Ratio	3,10 ± 0,18
Aa	0,94 ± 0,1
Vit C (mg $100g^{-1}$)	66.94 ± 19,18
Luminosidade (L)	53,80 ± 0,79
Cromaticidade (C)	19,90 ± 0,20
Ângulo de cor (°H)	117,62 ± 0,83

Os resultados foram obtidos da média de três repetições.

6.2.2. Polpa do cambuci após processamento

Para as variáveis analisadas, com exceção das análises de Sólidos solúveis, *ratio* e Hue, pode-se observar diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade em relação ao tempo. No que se refere ao tratamento, foram observadas diferenças a 5% de probabilidade em todas as variáveis analisadas. Não houve interação entre dias e tratamentos para a Acidez, Sólidos Solúveis (°Brix) e *ratio*, enquanto que para as demais variáveis houve significância (p<0,05) (Tabela 5).

Tabela 5 - Teste F (ANOVA) do tempo de armazenamento e sua interação com os aspectos físico-químicos dos diferentes tratamentos aplicados na polpa do fruto cambuci

VARIÁVEL	VALOR DE F			CV %
	TEMPO (DIA)	TRATAMENTO	TEMPO X TRAT	
pH	52,62*	5,25*	3,41*	2,13
Acidez (%ácido cítrico)	12,59*	22,71*	0,98 ns	2,09
Sólidos Solúveis (°Brix)	1,47 ns	25,07*	1,57 ns	2,25
Ratio	3,59* ns	11,26*	0,66 ns	3,17
Aa	57668,2*	10,11*	7,95*	0,70
Vit C (mg $100g^{-1}$ ms)	494,83*	476,18*	15,28*	5,64
Luminosidade (L)	64,78*	278,98*	29,38*	1,18
Cromaticidade (C)	24,00*	934,66*	12,21*	3,92
Ângulo de cor (°h)	0,96* ns	141,96*	2,13* ns	3,38

Os resultados foram obtidos da média de três repetições. * $p \leq 0,05$; ns: não significativo; CV (%): coeficiente de variação; ms: massa seca; AGE: ácido gálico equivalente.

6.2.2.1. Índice de acidez (pH)

De acordo com os resultados obtidos na Tabela 6 e Figura 20, foram observadas pequenas diminuições no valor do pH ao longo do tempo, sendo que somente para o tratamento liofilizado durante o segundo período foi detectada diferença significativa em relação aos demais períodos do mesmo tratamento à 5% de significância.

Durante a avaliação da polpa do cambuci nos diferentes períodos pode-se observar que:

- No primeiro período, não houve diferença estatística entre os tratamentos.
- No segundo período, houve diferença ao nível de 5% de probabilidade entre: polpa liofilizada *versus* pasteurizada congelada, congelada sem casca e refrigerada.
- No terceiro período, houve diferença estatística entre: polpa pasteurizada congelada *versus* liofilizada.
- No quarto período, houve significância (p<0,05) entre: polpa pasteurizada congelada *versus* congelada integral, congelada sem casca, refrigerada e liofilizada.

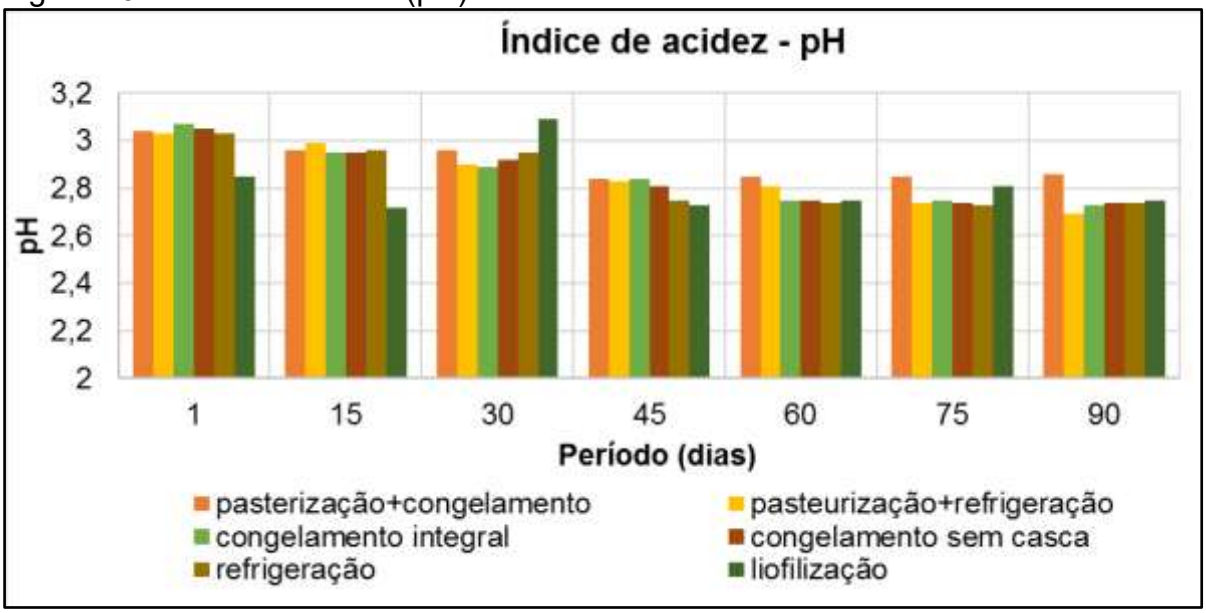
- No quinto período, houve significância (p<0,05) entre: polpa pasteurizada congelada *versus* demais tratamentos; polpa liofilizada *versus* congelada sem casca, refrigerada.
- No sexto período, houve significância (p<0,05) entre: polpa pasteurizada congelada *versus* demais tratamentos; polpa liofilizada *versus* pasteurizada refrigerada, congelada sem casca, refrigerada.
- No sétimo período, houve significância (p<0,05) entre: polpa pasteurizada congelada *versus* demais tratamentos; polpa pasteurizada refrigerada *versus* demais tratamentos; polpa liofilizada v*ersus* demais tratamentos.

Tabela 6 - pH da polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias

Dias	Pasteurização +congelamento	Pasteurização +refrigeração	Congelamento integral	Congelamento sem casca	Refrigeração	Liofilização
1	3,04±0,02 Aa	3,03±0,04 Aa	3,07±0,01Aa	3,05±0,00 Aa	3,03±0,01 Aa	2,85±0,02 Aa
15	2,96±0,04 Aa	2,99±0,02 Aab	2,95±0,07 Aab	2,95±0,01 Aa	2,96±0,01 Aa	2,72±0,01 Bb
30	2,96±0,01 Aa	2,90±0,31 Aabc	2,89±0,08 Aabc	2,92±0,03 Aabc	2,95±0,03 Aab	3,09±0,05 Ab
45	2,84±0,03 Aa	2,83±0,02 Aabcd	2,84±0,07 Abc	2,81±0,02 Abc	2,75±0,03 Ab	2,73±0,02 Ab
60	2,85±0,03 Aa	2,81±0,09 Abcd	2,75±0,01 Abc	2,75±0,01 Ac	2,74±0,05 Ac	2,75±0,03 Ab
75	2,85±0,01 Aa	2,74±0,01 Acd	2,75±0,02 Abc	2,74±0,02 Ac	2,73±0,01 Ac	2,81±0,07 Ab
90	2,86±0,01 Aa	2,69±0,08 Ad	2,73±0,02 Ac	2,74±0,06 Ac	2,74±0,07 Ac	2,75±0,03 Ab

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05) (n=3).

Figura 20 - Índice de acidez (pH)



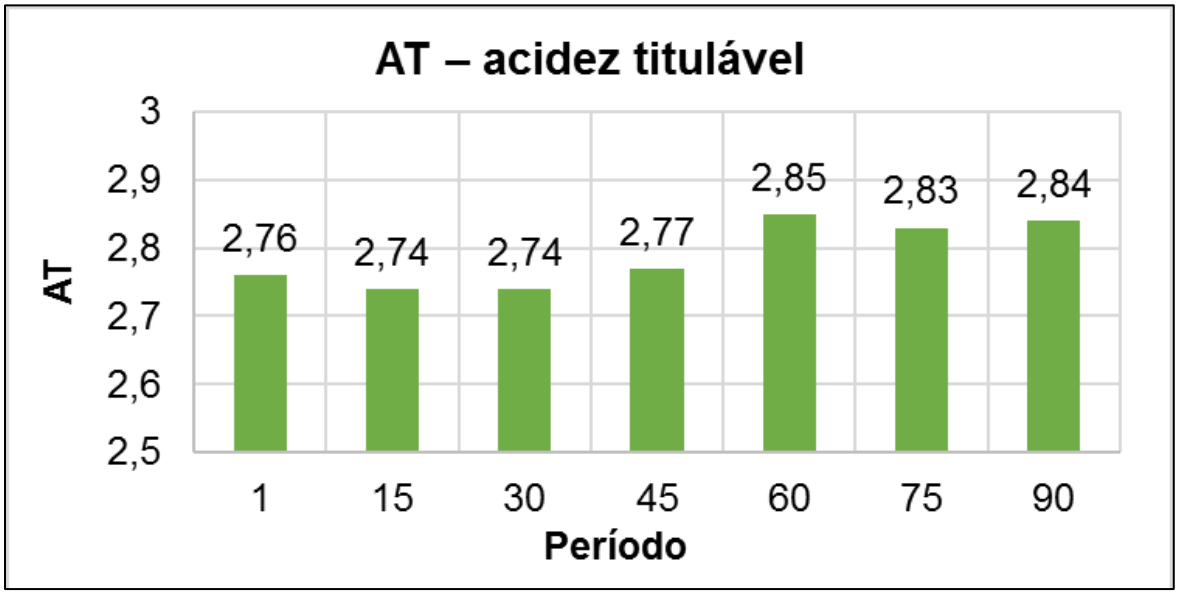
6.2.2.2. Acidez titulável (AT)

Os resultados para a acidez titulável (AT) mostraram que a polpa de cambuci apresentou valor médio estimado de acidez titulável igual a 2,76g ácido cítrico $100g^{-1}$ no 1° período, mantendo-se constante até o final do 4º período de armazenamento, diferindo significativamente do 5º período (2,85g ácido cítrico $100g^{-1}$), e a partir do qual apresentou valores constantes (Tabela 7 e Figura 21).

Tabela 7 - Acidez titulável média da polpa de cambuci durante o período de 90 dias de armazenamento

Período (Dias)	Acidez titulável (g de ácido cítrico $100g^{-1}$)
1	2,76 b
15	2,74 b
30	2,74 b
45	2,77 b
60	2,85 a
75	2,83 a
90	2,84 a

Figura 21 - Acidez titulável média por período da polpa de cambuci durante o período de 90 dias de armazenamento



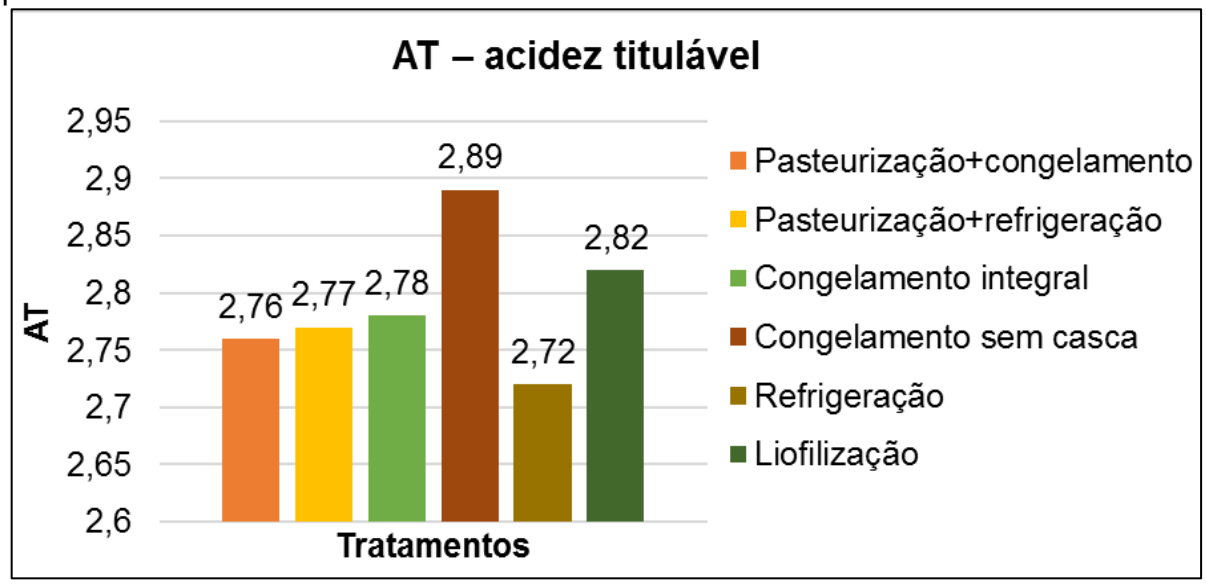
O tratamento polpa congelada sem casca apresentou teor de acidez titulável maior que os demais (2,89 g ácido cítrico $100g^{-1}$). No processo de refrigeração, foi encontrado o menor teor médio para At (2,72g ácido cítrico $100g^{-1}$). Todos os tratamentos, no entanto, apresentam-se com baixa acidez (Tabela 8 e Figura 22).

Tabela 8 - Acidez titulável média da polpa de cambuci durante o período de 90 dias de armazenamento

Tratamento	Acidez titulável (g de ácido cítrico $100g^{-1}$)
Pasteurizada congelada	2,76 c
Pasteurizada refrigerada	2,77 bc
Congelada integral	2,78 b
Congelada sem casca	2,89 a
Refrigerada	2,72 d
Liofilizada	2,82 b

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05) (n=3).

Figura 22 - Acidez titulável média por tratamento da polpa de cambuci durante o período de armazenamento



A acidez dos frutos deve-se à presença de ácidos orgânicos, sendo que o acúmulo destes promove o aumento de sabor ácido ou azedo (DAMODARAN et al., 2010).

Os valores de pH e acidez titulável encontrados nas polpas dos frutos de *C. phaea* confirmam que a acidez permaneceu conservada, durante todo o período de armazenamento, independentemente do tipo de processamento.

O pH para a polpa antes do tratamento era de 2,96 e variou entre 2,69 a 3,09 para os diferentes tratamentos durante o armazenamento, com valores próximos aos resultados de (SILVA et al., 2012), que encontraram variação entre 2,75 a 2,97 no pH.

A acidez foi de 3,26% de ácido cítrico para a polpa *in natura*, com pequena redução, obtendo valores médios entre 2,57 a 3,05% para os diferentes tratamentos durante o armazenamento da polpa, coincidindo com alguns valores encontrados por (BIANCHINI et al., 2016).

De acordo com Silva et al. (2010) valores de pH inferiores a 4,5 são considerados desejáveis, visto que limitam a proliferação de microrganismos no produto final, garantindo assim o seu armazenamento seguro.

Esse teor elevado de acidez é interessante sob o ponto de vista industrial, pois acentua o sabor da polpa, promovendo um fator de diluição elevado, gerando consequentemente maior rendimento do produto final (ANDRADE et al., 1993).

Embora tenham sido encontradas diferenças estatísticas entre algumas amostras, isto pode ser explicado pelo fato de estar sendo analisada uma amostra muito homogênea. Sendo assim, qualquer pequena variação da grandeza matemática utilizada, aponta diferença estatística significativa.

6.2.2.3. Sólidos solúveis totais (TSS)

Os sólidos solúveis indicam a quantidade de substâncias dissolvidas em um determinado solvente que, no caso dos alimentos, é a água (Chitarra e Chitarra, 2005). Em frutas, de acordo com (Chitarra e Chitarra, 2006), os sólidos solúveis correspondem, em sua maioria por açúcares, minerais e as pectinas.

Com relação aos valores de sólidos solúveis (SS), houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos (Tabela 9 e Figura 23):

- pasteurização+congelamento *versus* congelamento integral, congelamento sem casca e pasteurização+refrigeração.
- pasteurização+refrigeração *versu*s demais tratamentos.
- congelamento integral *versus* pasteurização+congelamento, refrigeração e liofilização.
- congelamento sem casca versus dos demais tratamentos.
- refrigeração *versus* pasteurização+congelamento, congelamento sem casca pasteurização+refrigeração.
- liofilização *versus* pasteurização+congelamento, pasteurização+refrigeração, congelamento integral, congelamento sem casca.

O tratamento congelamento sem casca apresentou o maior teor de sólidos solúveis totais quando comparado aos demais.

A quantidade de sólidos solúveis na polpa *in natura* foi de 9,20 ºBrix, enquanto que, para as polpas pós-processamento, os valores variaram entre 9,04 e 9,72 ºBrix.

Os valores obtidos são próximos aos encontrados por (Sanches, 2013), mas pequenas variações podem ser encontradas pelo fato de o teor de sólidos solúveis variar de acordo com o cultivar, o estádio de maturação e o clima (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

As diferenças encontradas entre os tratamentos podem estar relacionadas ao processamento, assim como descrito por Sugai et al. (2002), que alega que as diferenças existentes no valor de sólidos para as polpas pasteurizadas podem ser explicadas, em princípio, pela variação do ºBrix da matéria–prima e, principalmente, pelo fato de que quanto menor o tempo de retenção, maior foi a velocidade mássica no canal formado pela corrente do fluido na tubulação do equipamento, provocando um atrito entre as partículas da polpa e a parede da tubo. Desta forma, houve um decréscimo no valor do teor de sólidos solúveis, lido pelo índice refratométrico.

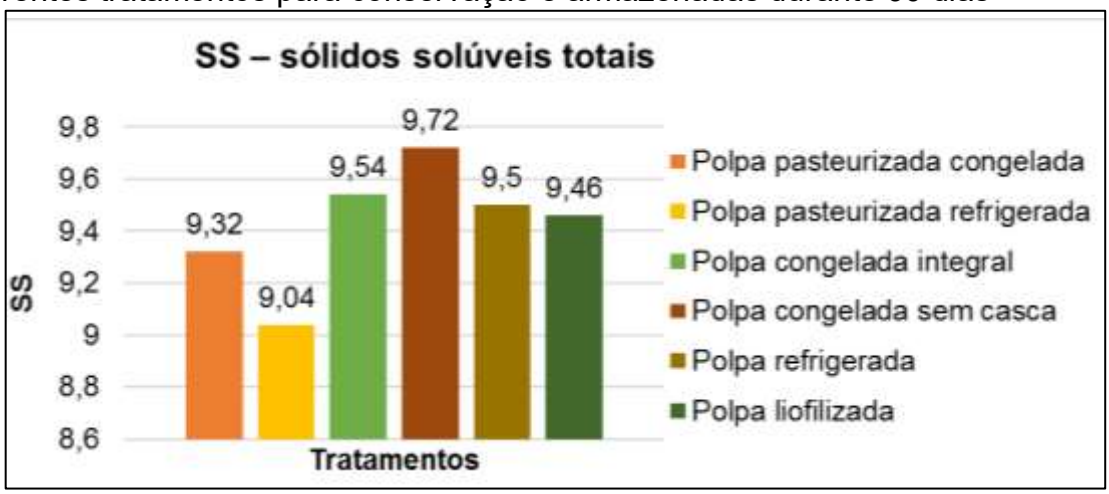
Comparando-se com três dos principais frutos da dieta brasileira, o cambuci coletado apresenta teor de sólidos solúveis totais semelhantes ao da laranja pera, 8 - 12° Brix, e ao limão tahiti, 9 °Brix (LADANYIA, 2010).

Tabela 9 – Média de sólidos solúveis da polpa de cambuci, quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias

Tratamento	Acidez titulável (g de ácido cítrico $100g^{-1}$)
Polpa pasteurizada congelada	9,32 c
Polpa pasteurizada refrigerada	9,04 d
Polpa congelada integral	9,54 ab
Polpa congelada sem casca	9,72 a
Polpa refrigerada	9,50 bc
Polpa liofilizada	9,46 bc

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05) (n=3).

Figura 23 - Média de sólidos solúveis da polpa de cambuci, quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias



6.2.2.4. Ratio

A relação entre os sólidos solúveis e a acidez titulável, conhecida como *ratio*, qualifica o fruto, quanto à maturidade e sabor, aumentando com a maturação e proporcionando-lhe sabor mais adocicado (CHITARRA, 2000). No caso do cambuci, antes da polpa ser submetida ao tratamento, era de 2,82 e não variou para durante o período de armazenamento para cada tratamento, obtendo-se valores entre 3,07 a 3,77. Os valores obtidos antes e depois dos tratamentos são considerados baixos, e coincidem com alguns resultados encontrados por (BIANCHINI et al., 2016) em seus experimentos.

6.2.2.5. Atividade de água (Aa)

A atividade de água para o fruto *in natura* foi de 0,94. Nas polpas processadas manteve-se alta em todos os períodos e tratamentos. A polpa de cambuci congelada integral, congelada sem casca, pasteurizada refrigerada e refrigerada apresentaram valores médios de Aa constantes entre eles, ao longo do tempo de armazenamento. Para polpa de cambuci liofilizada se obteve o valor médio estimado de Aa constante até o 4° dia, crescendo até no 5° período, e mantendo-se constante até o final do armazenamento (Tabela 10 e Figura 24).

Na polpa pasteurizada observou-se o aumento estatístico no sétimo período de armazenamento, o que pode ter sido ocasionado em decorrência da troca de umidade do produto com o ambiente, permitida por um furo na embalagem, observado no dia da análise.

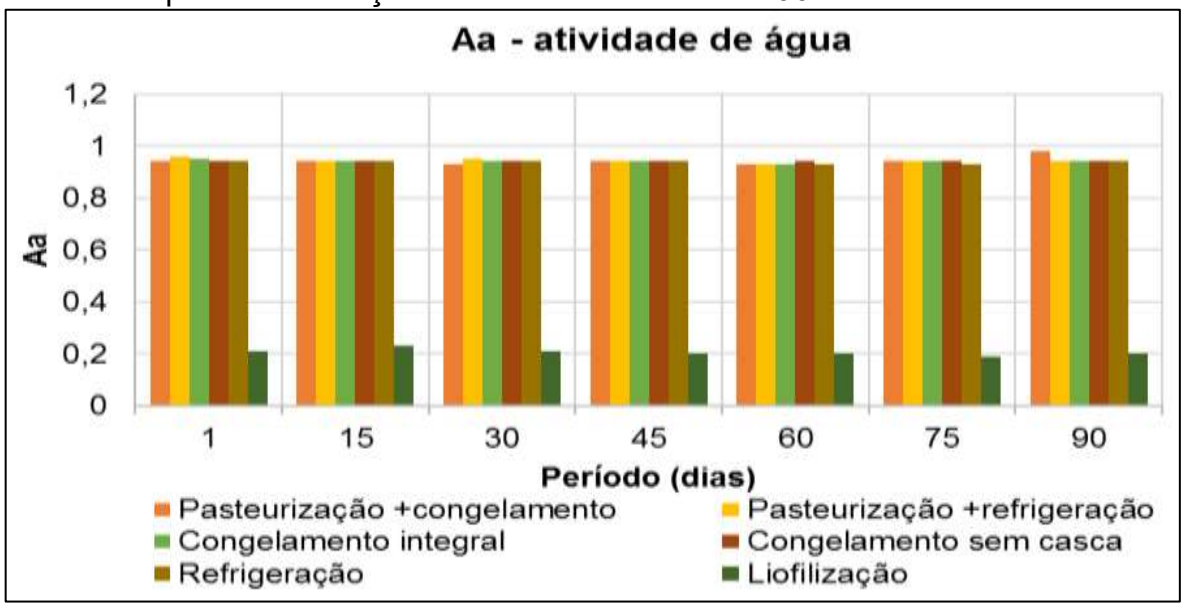
Em análises realizadas por Silva et al. (2012) com diferentes variedades de cambuci, a Aa também se demonstrou elevada, apresentado valores de 0,98. A elevada atividade de água favorece o desenvolvimento e multiplicação de microrganismos patogênicos e deteriorantes (GOMES; OLIVEIRA, 2011). No entanto, a microbiota dos alimentos também depende de outros fatores, como o pH. Muitos microrganismos patogênicos têm seu crescimento completamente inibido em pH baixos, ao redor de 3-3,5 (SPOTO, 2006).

Tabela 10 - Atividade de água da polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias

Dias	Pasteurização +congelamento	Pasteurização +refrigeração	Congelamento integral	Congelamento sem casca	Refrigeração	Liofilização
1	0,94±0,01 Ab	0,96±0,01 Aa	0,95±0,00 Aa	0,94±0,00 Aa	0,94±0,0 Aa	0,21±0,00 Ba
15	0,94±0,00 Ab	0,94±0,00 Aa	0,94±0,00 Aa	0,94±0,00 Aa	0,94±0,0 Aa	0,23±0,02 Ba
30	0,93±0,00 Ab	0,95±0,01 Aa	0,94±0,01 Aa	0,94±0,00 Aa	0,94±0,0 Aa	0,21±0,01 Ba
45	0,94±0,00 Ab	0,94±0,00 Aa	0,94±0,00 Aa	0,94±0,00 Aa	0,94±0,0 Aa	0,20±0,00 Bb
60	0,93±0,00 Ab	0,93±0,00 Aa	0,93±0,00 Aa	0,94±0,00 Aa	0,93±0,0 Aa	0,20±0,01 Bb
75	0,94±0,00 Ab	0,94±0,00 Aa	0,94±0,00 Aa	0,94±0,00 Aa	0,93±0,0 Aa	0,19±0,00 Bb
90	0,98±0,00 Aa	0,94±0,00 Ba	0,94±0,00 Ba	0,94±0,00 Ba	0,94±0,0 Ba	0,20±0,01 Cb

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05) (n=3).

Figura 24 - Atividade de água da polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias



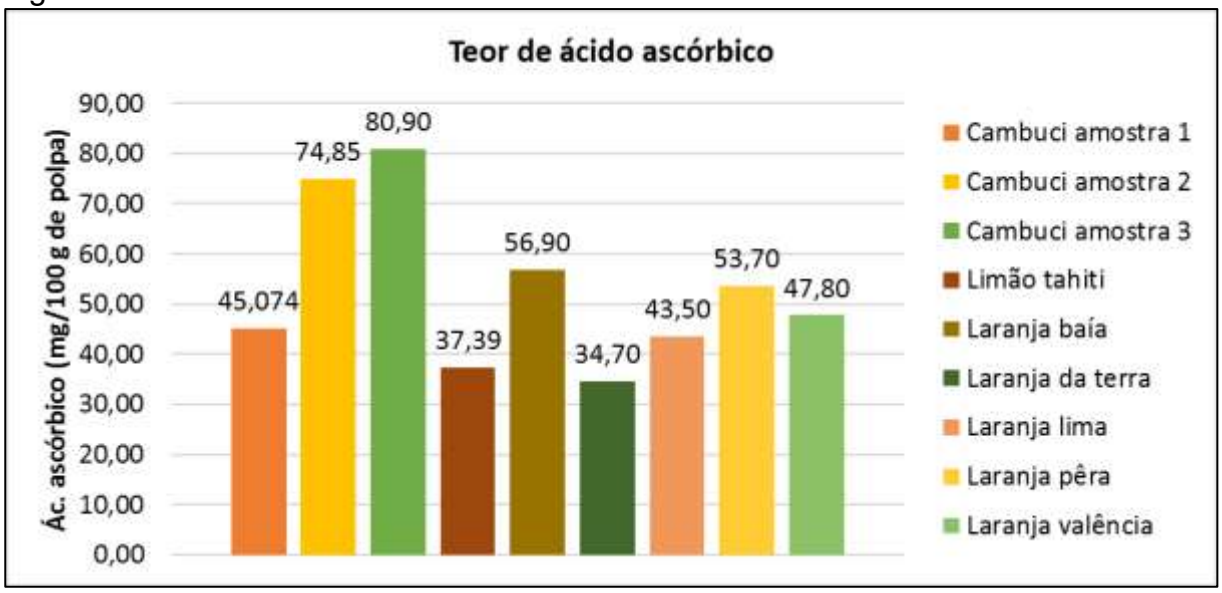
6.2.2.6. Vitamina C

A média inicial dos teores de vitamina C do fruto do cambuci representa 141.46% (66,94 mg/100 g de polpa), em relação aos valores médios observados em frutos de laranja (47,32 mg/100 g) e 179.04% aos do limão (37,39 mg/100 g), ambos valores obtidos da tabela TACO (2011) (tabela 10 e figura 20). Os cromatogramas encontram-se no Anexo B. O suco de laranja é um produto altamente valorizado, que representa uma fonte significativa de vitamina C (MAJO et al., 2005; RAPISARDA et al., 2008; AYHAN et al., 2001; BEZMAN et al., 2001), mas o cambuci pode ser também uma fonte alternativa significativa de vitamina C para o organismo humano, como se observa na Tabela 11 e Figura 25.

Tabela 11. Níveis médios de vitamina C no fruto do cambucizeiro

Fruta	Vitamina C mg/100 g de polpa	Média mg/100 g de polpa	Fonte
Cambuci amostra 1	45.074		
Cambuci amostra 2	74.847	66.94	
Cambuci amostra 3	80.904		

Figura 25. Teor de ácido ascórbico em diferentes frutas



De acordo com os resultados obtidos, ao longo do período de armazenamento, as polpas de cambuci analisadas apresentaram uma redução significativa ($p<0,05$) da quantidade inicial de vitamina C (Tabela 12 e Figura 26). Os resultados encontrados estão de acordo com outros trabalhos relacionados à redução de vitamina C em outras espécies durante o armazenamento de polpa (KABASAKALIS et al., 2000).

As médias iniciais que apresentaram maiores teores de vitamina C foram as polpas congeladas integral (66,44mg.100^{-1}g de polpa) e as congeladas sem casca (62,15mg.100^{-1}g de polpa). Após 90 dias as maiores médias continuaram sendo representadas pelos tratamentos de congelamento integral (31,91mg.100^{-1}g) e congelamento sem casca (30,66 mg.100^{-1}g de polpa). Os resultados deste estudo demonstraram que a redução do ácido ascórbico foi maior para a polpa de cambuci refrigerada.

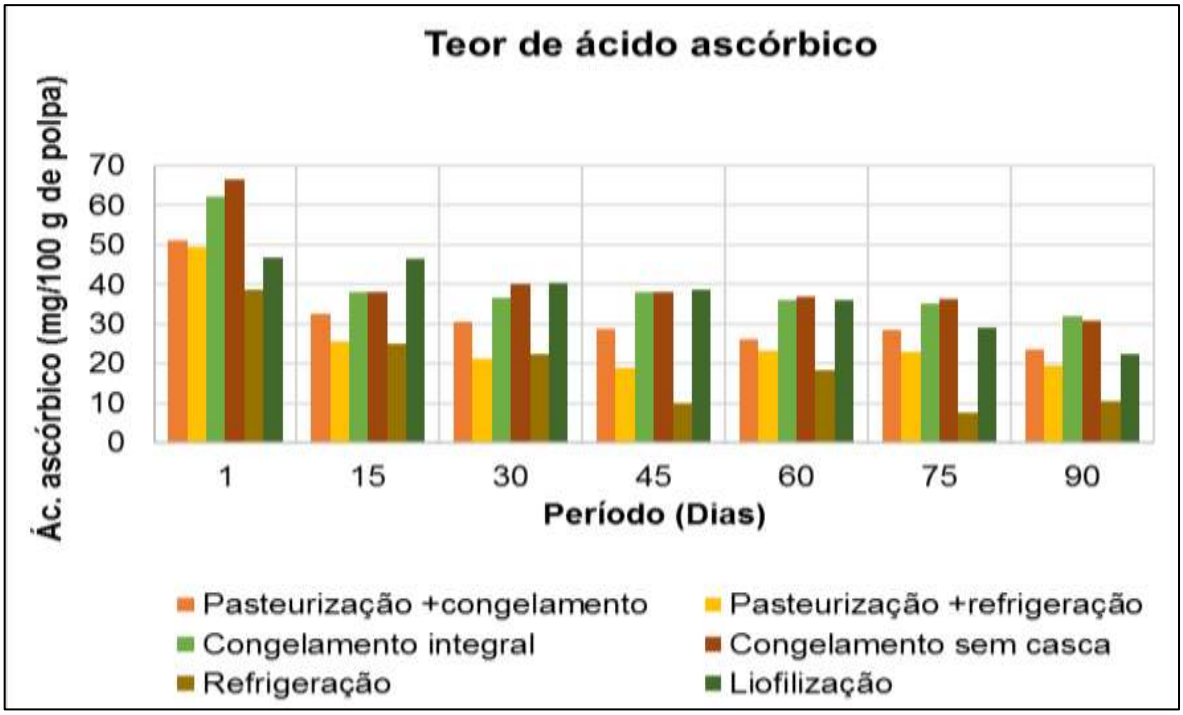
Por causa de sua instabilidade, o ácido ascórbico pode ser um índice de avaliação do efeito do processo agroindustrial na retenção de nutrientes (POLYDERA et al., 2003). O método de tratamento escolhido, o tempo de processamento, temperaturas de processamento utilizadas, o corte ou a maceração da fruta podem causar perdas significativas de vitaminas.

Tabela 12 - Teor de ácido ascórbico expresso em mg, presente em 100g de polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias

Dias	Pasteurização +congelamento	Pasteurização +refrigeração	Congelamento integral	Congelamento sem casca	Refrigeração	Liofilização
1	51,04±0,93 Ba	49,32±2,09 Ba	62,15±0,76 Aa	66,45±1,03 Aa	38,74±9,50 Ca	46,84±0,54 Ba
15	32,63±0,67 Bb	25,48±0,73 Cb	38,11±1,45 Bb	38,12±0,80 Bb	24,85±1,54 Cb	46,571,95 Aa
30	30,45±1,50 Bbc	21,31±1,34 Cbc	36,48±0,26 ABbc	39,95±1,17 Ab	22,20±0,95 Cb	40,45±1,72 Ab
45	28,74±0,81 Bbcd	18,76±1,74 Cc	37,89±1,32 Abc	38,15±0,68 Ab	9,91±0,70 Dd	38,63±0,52 Ab
60	26,09±0,71 Bcd	23,31±0,26 Cbc	36,12±0,42 Abc	37,00±0,07 Ab	18,29±0,19 Cc	36,12±0,66 Ab
75	28,41±1,14 CDbcd	22,92±0,79 Dbc	35,06±0,72 ABbc	36,24±0,32 Abc	7,41±0,52 Ed	29,13±098 Bc
90	23,57±0,49 Bd	19,51±3,12 Bbc	31,91±0,85 Ac	30,66±0,38 Ac	10,44±0,41 Cd	22,48±0,65 Bd

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05) (n=3).

Figura 26 - Teor de ácido ascórbico expresso em mg, presente em 100g de polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias



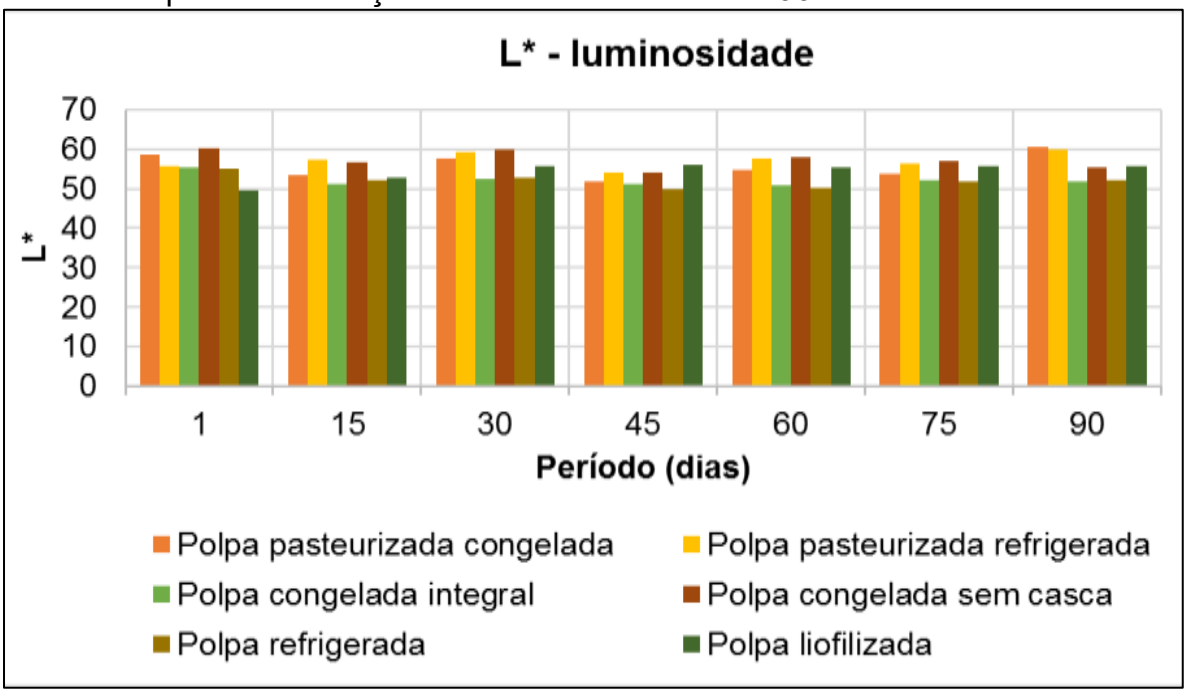
6.2.2.7. Cor

A luminosidade permite a avaliação da tonalidade da cor da amostra, por meio de uma escala que varia de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca) (MINOLTA, 1998). Para a polpa *in natura,* a luminosidade média obtida foi de 53,80. Para as polpas processadas, os valores obtidos variaram entre 47,96 e 61,66 durante os períodos de armazenamento, representando boa capacidade da polpa em refletir luz (Tabela 13 e Figura 27). Valores semelhantes foram encontrados por Silva et al. (2012) e Bianchini et al. (2016).

Tabela 13 - Luminosidade da polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias

Dias	Polpa pasteurizada congelada	Polpa pasteurizada refrigerada	Polpa congelada integral	Polpa congelada sem casca	Polpa refrigerada	Polpa liofilizada
1	58,53 Aab	55,63 Bcd	55,49 Ba	60,14 Aa	54,95 Ba	49,67 Cc
15	53,46 Bcd	57,32 Aab	51,12 Cb	56,80 Acd	52,19 BCb	52,77 BCb
30	57,57 BCb	59,23 ABab	52,57 Db	60,01 Aab	52,88 Dab	55,59 Ca
45	51,83 Bd	54,18 Ad	51,09 Bb	54,21 Ae	50,00 Bc	55,88 Aa
60	54,85 Bc	57,67 Abc	50,90 Cb	57,94 Abc	50,34 Cc	55,36 Ba
75	53,83 BCcd	56,44 Ac	52,20 Cb	56,96 Acd	51,79 Cbc	55,56 ABa
90	60,61 Aa	59,94 Aa	51,88 Cb	55,26 Bde	52,12 Cbc	55,69 Ba

Figura 27 - Luminosidade da polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias



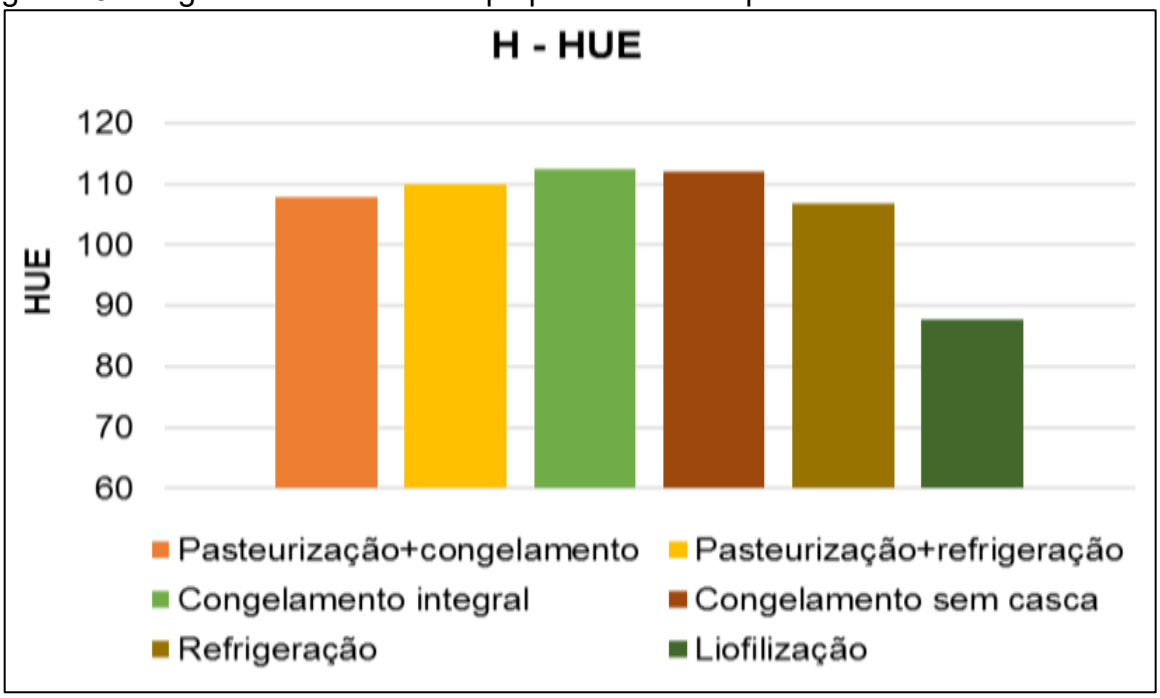
A polpa *in natura* apresentou ângulo de cor de 117,62 H° caracterizando-se com a coloração esverdeada. As amostras de polpa pasteurizada, pasteurizada refrigerada, congelada sem casca, congelada integral e refrigerada obtiveram valores ligeiramente menores em relação ao fruto, permanecendo constantes durante o período de armazenamento. A polpa pasteurizada liofilizada, por sua vez, apresentou valores significativos ($p<0,05$) 87,63H° caracterizando-se com a coloração marrom, que pode ter sido resultante do processo de liofilização (Tabela 14 e Figura 28).

Tabela 14 - Ângulo de cor médio da polpa de cambuci para cada tratamento

Tratamento	Hue
Polpa pasteurizada congelada	107,78 b
Polpa pasteurizada refrigerada	109,87 ab
Polpa congelada integral	112,42 a
Polpa congelada sem casca	112,05 ab
Polpa refrigerada	106,78 b
Polpa liofilizada	87,63 c

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05) (n=3).

Figura 28 - Ângulo de cor médio da polpa de cambuci para cada tratamento



A partir dos resultados de croma (Tabela 15 e Figura 29), com exceção do tratamento de liofilização, o tom foi reduzido pela cromaticidade, obtendo-se valores no intervalo de 14,24 a 20,62, região que se aproxima do centro do círculo de cores (MINOLTA, 1998), denotando uma mistura de colorações. O mesmo ocorreu para a polpa in natura que obteve um valor de cromaticidade 19,91.

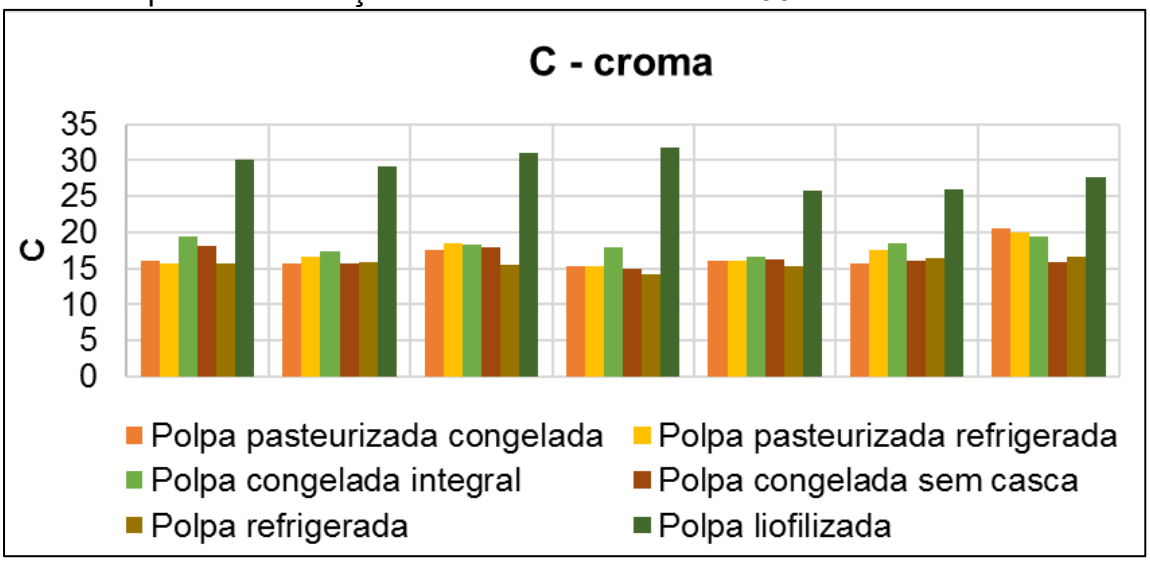
É possível verificar que o processo de liofilização afetou a cor da polpa, alterando seu valor inicial para a faixa de cromaticidade no intervalo de 25,83 a 31,80, que representa uma cor menos intensa que as demais. Tal fato pode ser atribuído a uma maior destruição dos pigmentos durante seu processamento resultante da elevada temperatura prolongada utilizada na secagem de seu produto (BOEKEL, 2006; RANNOU et al., 2013).

Tabela 15 - Cromaticidade da polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias

Dias	Polpa pasteurizada congelada	Polpa pasteurizada refrigerada	Polpa congelada integral	Polpa congelada sem casca	Polpa refrigerada	Polpa liofilizada
1	16,09 CDb	15,58 Db	19,34 Ba	18,11 BCa	15,63 Da	30,16 Aab
15	15,57 Bb	16,62 Bab	17,36 Ba	15,71 Bab	15,88 Ba	29,07 Abc
30	17,59 BCb	18,47 Ba	18,32 Bab	17,95 BCa	15,47 Ca	31,00 Aab
45	15,33 Cb	15,37 Cb	17,97 Bab	14,99 Cb	14,24 Ca	31,80 Aa
60	16,12 Bb	16,06 Bab	16,65 Bb	16,31 Bab	15,30 Ba	25,83 Ad
75	15,59 Cb	17,58 BCab	18,38 Bab	16,09 BCab	16,35 BCa	25,91 Ad
90	20,62 Ba	20,04 Ba	19,50 Ba	15,89 Cab	16,65 Ca	27,62 Acd

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤0,05) (n=3).

Figura 29 - Cromaticidade da polpa de cambuci quando submetida a diferentes tratamentos para conservação e armazenadas durante 90 dias



6.3. Compostos voláteis - identificação dos compostos voláteis

As composições químicas dos compostos voláteis encontrados para cada tratamento é apresentada na Tabela 16. Os cromatogramas encontram-se no Anexo C. Para a identificação dos principais compostos, considerou-se aqueles que se apresentam em quantidade percentual superior a 5%. Assim, foram constatados os seguintes componentes majoritários:

- Polpa pasteurizada-congelada: n-hexanol (11,0%), Acetato de hexila (7,4%), Limoneno (5,6%) 1,8-cineol (5,3%), trans-β-ocimeno (8,1%), linalol (23,4%), (E)-cariofileno (6,3%)

- Polpa pasteurizada-refrigerada: α-tujeno (12,1%), trans-β-ocimeno (8,4%), γ-terpineno (5,9%), linalol (26,1%), α-cubebeno (8,4%)
- Polpa congelada-integral: n-hexanol (10,93%), α-pineno (6,30%), β-pineno (5,66%), Acetato de hexila (9,74%), limoneno (6,42%), trans-β-ocimeno (5,78%), linalol (12,72%), (E)-cariofileno (6,40%)
- Polpa congelada sem casca: n-hexanol (9,4%), α-pineno (7,1%), β-pineno (6,5%), Acetato de hexila (7,8%), limoneno (11,2%), α-copaeno (5,5%), β-elemeno (5,7%), (E)-cariofileno (6,50%)
- Polpa refrigerada: n-hexanol (44,4%), 1,8-cineol (18,05%), linalol (13,23%), α-terpineol (8,76%)
- Polpa liofilizada: n-hexanol (10,44%), α-pineno (7,96%), β-pineno (5,44%), Limoneno (5,38%), 1,8-cineol (16,83%), trans-β-ocimeno (5,43%), linalol (8,66%), (E)-cariofileno (5,31%)

Os principais compostos voláteis majoritarios foram o linalol para os tratamentos pasterização+congelamento (23,4%), pasterização+refrigeramento (26,1%) e congelamento Integral (12,7%), o limoneno para o tratamento congelamento sem casca (11,2%), o 1-hexanol para o tratamento refrigeração (44,4%), e o 1,8 cineol para o tratamento liofilização (16,8%).

A composição dos voláteis apresentou importantes compostos para aplicação fármaco-cosmética como, por exemplo, o linalol, que é um monoterpeno alcoólico terciário de cadeia aberta que vem sendo largamente usado como composto de partida para várias sínteses importantes, como a do acetato de linalila, que tem sido utilizado nas funções acaricida, bactericida e fungicida. Seu poder sedativo tem sido utilizado com sucesso na medicina. Assim, o linalol possui ampla aplicação em diferentes áreas, sendo de extrema importância sua crescente produção (SILVA et al., 2003; LEÃO, 2012). O linalol ainda pode ser empregado em perfumaria em substituição aos óleos de bergamota (mexerica) e de lavanda (MERCK INDEX, 1996; GARLET, 2007).

Para os tratamentos liofilização, pasterização+congelamento e pasterização+refrigeramento, os compostos monoterpenos oxigenados representam a classe mais abundante entre os compostos voláteis identificados. Já o tratamento congelamento integral, os monoterpenos hidrocarbonetos representaram a classe

mais abundante. Para o tratamento congelamento sem casca, os sesquiterpenos hidrocarbonetos representadam a classe mais abundante nos compostos voláteis. Enquanto que para o tratamento refrigeração, os alccois representaram a classe mais abundante nos compostos voláteis.

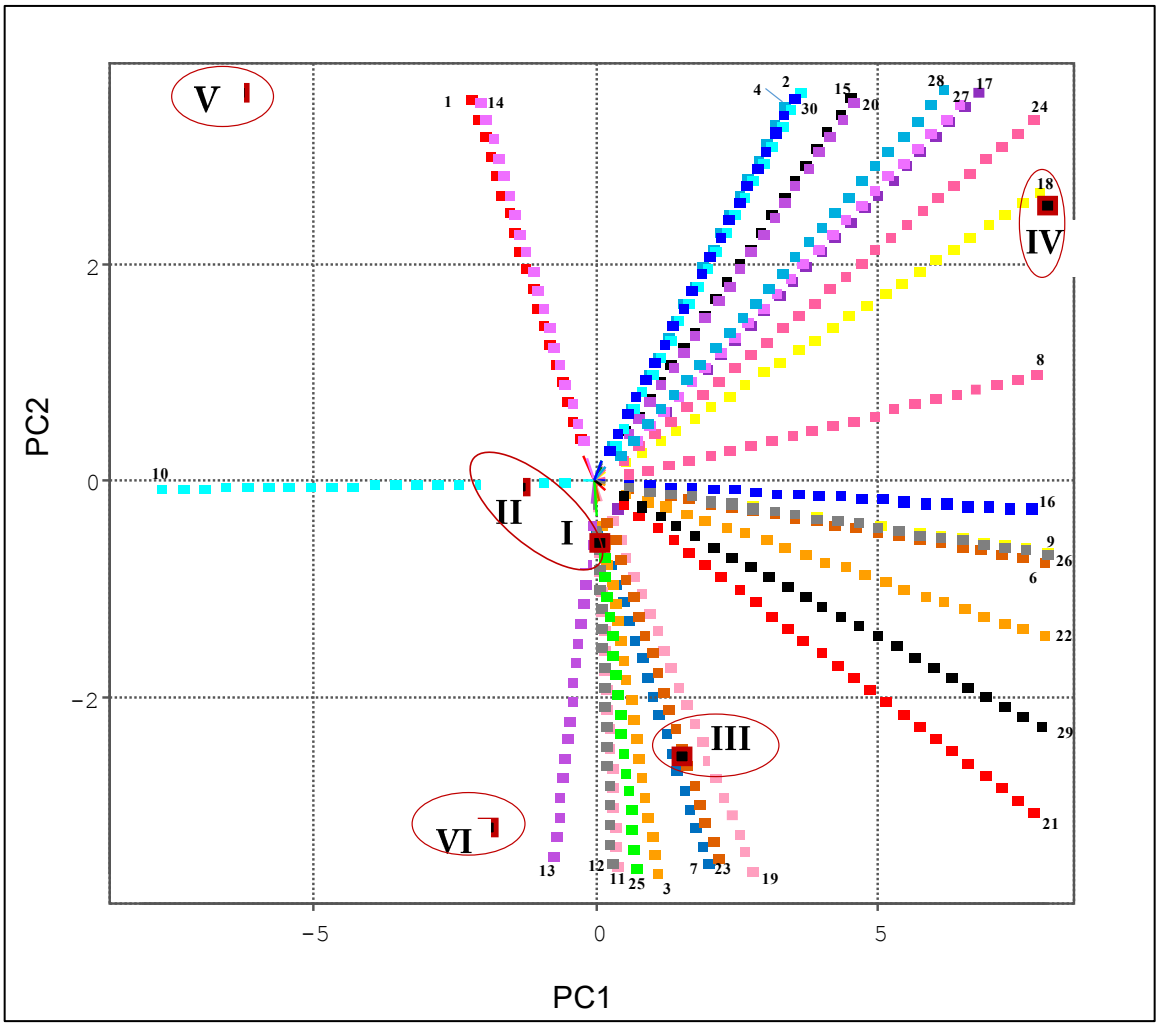
Tabela 16 - Composições químicas dos compostos voláteis encontrados para cada tratamento

Substância	IK*cal	IK**	Polpa pasteurizada congelada	Polpa pasteurizada refrigerada	Polpa congelada	Polpa congelada s/ casca	Polpa refrigerada	Polpa liofilizada
1-hexanol		870	10,92	12,1	10,93	9,37	44,4	10,44
α-tujeno	924	931	0	0	0	0,52	0	0
α-pineno	930	939	4,31	2,15	6,3	7,14	2,24	11,94
sabineno	970	976	0	0,17	0	0,72	0	0
β-pineno	973	980	3,47	0,41	5,66	6,49	0,21	5,44
mirceno	989	991	0,56	0,77	0,88	1,16	0	0,24
etil_hexanoato	998	996	1,12	0,76	1,5	0,77	0,59	0,47
α-felandreno	1002	1005	2	0,81	2,36	3,86	0,52	1,17
acetato de hexila	1012	1008	7,37	4,91	9,74	7,75	0,13	1,95
o-cimeno	1021	1022	0,49	0,68	0,99	1,6	0	1,51
Limoneno	1026	1031	5,56	4,18	6,42	11,23	1,4	5,38
1,8-cineol	1028	1033	5,26	8,38	4,68	0,78	18,05	16,83
trans-β-ocimeno	1046	1050	8,09	5,9	9,16	3,05	1,52	5,43
γ-terpineno	1056	1062	0	0,22	0,41	0,25	0	0,81
terpinoleno	1086	1088	0,11	0,53	0	0,06	0	1,66
linalol	1098	1098	23,44	26,06	12,72	1,85	13,23	8,66
4-terpineol	1174	1177	0,54	1,29	0,15	0,32	1,1	0,21
α-terpineol	1187	1189	2,4	8,39	0,65	0,5	8,76	3,1
α-cubebeno	1349	1351	0,24	0	0,11	0,86	0	0
α-copaeno	1375	1376	2,67	1,57	2,6	5,51	0	2,13
β-cubebeno	1389	1390	0,38	0,11	0,45	1,77	0	0,24
β-elemeno	1391	1391	3,29	1,93	3,03	5,66	0	0
(*E*)-cariofileno	1418	1418	6,27	4,43	6,4	6,52	0,15	5,31
allo-aromadendreno	1437	1439	0,24	0,26	0,12	0,66	0	0
α-humuleno	1452	1454	2,51	2,21	3,11	4,28	0	1,91
α-aromadendrene	1459	1461	0,77	0,73	0,88	1,4	0	0,51
cis-Cadina-1(6),4-dieno	1461	1463	0	0	0	0,35	0	0
γ-muuroleno	1475	1477	0,31	0,72	0,77	0,62	0	0,54
germacreno_D	1480	1480	2,04	1,01	2,1	4,51	0	0
b-selieno	1484	1485	0,75	0,97	1,21	0,78	0	1,55
cis-β-guaieno	1490	1490	0	0	0	0,31	0	0
biciclogermacreno	1495	1494	1,21	1,52	1,33	2,75	0	1,15
α- muuroleno	1499	1499	0	0,35	0,14	0,47	0	0
germacreno A	1503	1503	0,84	0,55	0,79	2,16	0	0
γ-cadineno	1512	1513	0,24	0,08	0,16	0,53	0	0
δ- cadineno	1522	1524	0,89	1,17	1,33	1,35	0	0,21
cubebeno	1531	1532	0	0	0	0,06	0	0
Nd			1,6	16,4	2,9	2,0	7,7	11,2
Total identified			98,4	83,6	97,1	98	92,3	88,8
Álcool			11,0	0,4	10,9	9,4	44,4	10,4
Éster			8,5	5,7	11,2	8,5	0,7	2,4
monoterpenos hidrocarbonetos			24,6	15,8	32,2	36,1	5,9	33,6
monoterpenos oxigenados			31,6	44,1	18,2	3,5	41,1	28,8
sesquiterpene hidrocarbonetos			22,7	17,6	24,5	40,6	0,2	13,6

IK* = Indice de kovats calculado
IK** = Indice de kovats encontrados na Literatura

A Análise de Componentes Principais (PCA) está representada pela projeção das variáveis e das observações (Figura 30). A PCA correlaciona os compostos aromáticos encontrados nas polpas submetidas aos diferentes tratamentos agroindustriais utilizados neste trabalho.

Figura 30 - Análise de Componentes Principais, utilizando os parâmetros compostos voláteis: projeção das variáveis e das observações. Variáveis: PC= Componente Principal. Variáveis: 1=1-hexanol, 2=α-tujeno, 3=α-pineno, 4=sabineno, 5=β-pineno 6= mirceno, 7=etil hexanoato, 8=α-felandreno, 9=limoneno, 10=1,8 cineol 11=trans-β-ocimene, 12=γ-terpineno, 13=terpinoleno, 14=terpinenol, 15=α-cubebeno, 16=α-copaeno, 17=β-cubebeno, 18=β-elemeno, 19=trans-cariofileno, 20=aromadendreno, 21=α-humuleno, 22=α-aromadendreno, 23=γ-muuroleno, 24=germacreno, 25=β-selieno, 26=biciclogermacreno, 27=germacreno D, 28=γ-cadineno, 29=δ-cadineno, 30=cadina-1,4-dieno. Observações: PC1 e PC2= Componentes Principais 1 e 2. **I**=Polpa pasteurizada-congelada, **II**= Polpa pasteurizada-refrigerada, **III**=Polpa Congelada Integral, **IV**=Polpa Congelada Sem Casca, **V**=Polpa Refrigerada, **VI** =Polpa Liofilizada.



Para efeito da análise, duas Componentes Principais (PC) foram extraídas do conjunto total de dados, explicando 78,57% da variância. A primeira componente principal (PC1) explicou 59,37% da variância estatística e foi correlacionada positivamente com as variáveis α-tujeno, α-pineno, sabineno, mirceno, α-felandreno, limoneno, trans-β-ocimeno, γ-terpineno, α-cubebeno, α-copaeno, β-cubebeno, β-elemeno, (*E*)-cariofileno, aromadendreno, α-humuleno, α-aromadendreno, cis-cadina-1(6)4-dieno, γ-muuroleno, germacreno D, β-selieno, cis-β–guaieno, biciclogermacreno, germacreno A, γ-cadineno, δ-cadinene, cadina-1,4-dieno e negativamente com os componentes n-hexanol, 1,8 cineol, terpinoleno, 4-terpineol.

A segunda componente principal (PC2) explicou 19,20% da variância estatística, e foi correlacionada positivamente com as variáveis 1-hexanol, α-tujeno, sabineno, α-felandreno, 4-terpineol, α-cubebeno, β-cubebeno, β-elemeno, aromadendreno, cis-cadina-1(6) 4-dieno, germacreno D, cis-β-guaieno, germacreno A, γ–cadineno, cadina-1,4–dieno.

De acordo com as duas primeiras componentes principais, as polpas pasteurizada-congelada e pasteurizada-refrigerada foram caracterizadas por valores medianos de α-pineno, 1,8 cineol, trans-β-ocimeno, γ-terpineno, terpinoleno, (*E*)-cariofileno, γ-muuroleno e β-selineno.

As polpas liofilizada e congelada sem casca apresentaram baixos valores para os compostos citados. A polpa congelada sem casca foi caracterizada por altos valores de α-tujeno, sabineno, mirceno, α-felandreno, limoneno, α-cubebeno, α-copaeno, β-cubebeno, β-elemeno, aromadendreno, germacreno D, germacreno A, bicyclogermacreno, γ-cadineno e cadina-1,4-dieno.

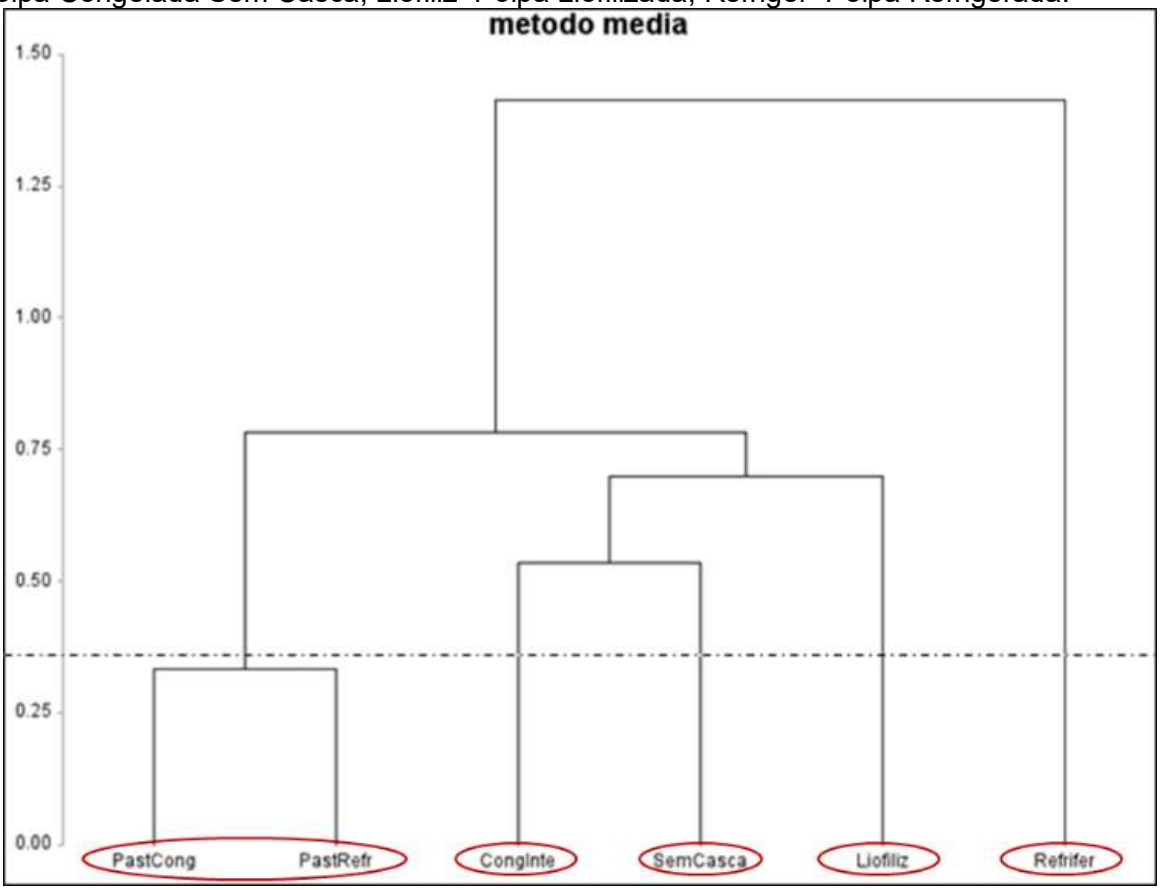
A polpa congelada Integral foi caracterizada por altos valores de α-pineno, trans-β-ocimeno, γ-terpineno, terpinoleno, (*E*)-cariofileno, α-humuleno, α-aromadendreno, γ-muuroleno, β-selieno e δ-cadineno.

A polpa refrigerada foi caracterizada por altos valores de 1,8 cineol, n-hexanol e terpineol e valores medianos de α-tujeno, sabineno, α-cubebeno e allo-aromadendreno.

A polpa liofilizada foi caracterizada por altos teores de 1-hexanol, 1,8 cineol e terpineol.

A Análise Hierárquica de Agrupamentos (AHC), que avaliou o perfil volátil das polpas pós-processamento, por meio do teste de médias com 35% de similaridade, esclarece que o perfil dos voláteis nas polpas pode ser dividido em cinco grupos de perfis (Figura 31).

Figura 31 - Dendrograma obtido a partir da Análise Hierárquica de Agrupamentos (AHC) do perfil volátil das polpas pós processamento. PastCong=Polpa pasteurizada Congelada, PastRefri=Polpa pasteurizada Refrigerada, CongInte=Polpa Congelada Integral, SemCasca= Polpa Congelada Sem Casca, Liofiliz=Polpa Liofilizada, Refriger=Polpa Refrigerada.



Observou-se que os tratamentos congelamento integral, congelamento sem casca, refrigeração e liofilização não formaram grupos, pois possuem características distintas entre si.

Pode-se observar também, a formação do grupo composto pela polpa pasteurizada-congelada e pasteurizada-refrigerada, que possuem similaridades no perfil dos voláteis. A formação deste último grupo indica que o processo de pasteurização ocasiona uma possível padronização.

6.4. Análise sensorial

Os testes sensoriais na polpa de cambuci foram realizados ao término do período de análises (90 dias após processamento). De acordo com o preconizado pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº12, de 02 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BRASIL, 2001), todas as polpas do fruto do cambucizeiro submetidas aos diferentes tratamentos agroindustriais estavam adequados para o consumo, mas para realização da análise sensorial se optou por excluir aquelas submetidas aos tratamentos pasteurização+refrigeração e refrigeração, que poderiam ter sofrido pequenas mudanças sensoriais durante o período de armazenamento.

6.4.1. Aceitação

Os resultados do teste de aceitação com a utilização de escala hedônica para as amostras de polpa do cambuci revelam que não houve diferença estatística ($p<0,05$) entre os tratamentos da polpa pasteurizada congelada, polpa congelada integral e polpa congelada sem casca para todos os atributos selecionados (sabor, cor, textura, aroma e impressão global). O tratamento liofilizado diferiu estatisticamente ($p>0,05$) em todos os atributos entre os demais tratamentos.

Os valores médios obtidos são apresentados na Tabela 17. Para polpa pasteurizada congelada, polpa congelada integral e polpa congelada sem casca, os atributos “sabor”, “aroma” e “impressão global” foram classificados como “Gostei pouco”. Para polpa pasteurizada congelada e polpa congelada integral, o atributo “cor” foi classificado como “gostei pouco” enquanto que para o tratamento congelamento sem casca foi classificado como “gostei”. Para a polpa pasteurizada congelada e polpa congelada integral o atributo “textura” foi classificado “não gostei nem desgostei” enquanto que para a polpa congelada sem casca foi classificado como “gostei pouco”.

Tabela 17 - Teste sensorial de aceitação da polpa de cambuci submetida aos tratamentos: pasteurização+congelamento, congelamento integral, congelamento sem casca e liofilização

	Sabor	Cor	Textura	Aroma	Impressão global
Polpa pasteurizada congelada	5,61a	6,04a	5,42a	6,16a	5,99 a
Polpa congelada integral	6,16a	6,39a	5,19a	6,49a	6,24 a
Polpa congelada sem casca	5,92a	6,57a	5,92a	6,45a	6,34 a
Polpa liofilizada	4,46b	3,40b	4,22b	4,89b	4,14 b

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P\leq0,05$) (n=3).

Pode-se afirmar que a amostra de suco tropical da polpa de cambuci congelada sem casca foi a preferida entre os provadores, seguido da polpa congelada integral e polpa pasteurizada congelada. O suco tropical da polpa liofilizado foi o menos preferido.

Não foram encontrados dados na literatura para comparação com os resultados obtidos.

6.4.2. Diferença

Os valores médios obtidos para a diferença sensorial do suco tropical proveniente dos diferentes tratamentos submetidos à polpa de cambuci são apresentados na Tabela 18. O resultado do teste de diferença com a utilização de escala hedônica para as amostras de polpa do cambuci revelou que o suco tropical da polpa liofilizada apresentou a maior diferença estatística ($p<0,05$) em relação ao padrão (suco tropical do fruto de cambuci), sendo classificada como “diferente”. Os sucos tropical das polpas pasteurizada congelada e polpa congelada sem casca não apresentaram diferença estatística ($p>0,05$), sendo classificadas entre “ligeiramente e moderadamente diferentes”. O suco tropical da polpa congelada integral apresentou a menor diferença entre o padrão para todos os atributos avaliados, sendo classificada entre “nenhuma diferença do padrão e ligeiramente diferente”.

Tabela 18 - Teste sensorial de diferença da polpa de cambuci submetida aos tratamentos: pasteurização+congelamento, congelamento integral, congelamento sem casca e liofilização

	Sabor	**Cor**	**Textura**	**Aroma**	**Impressão global**
Polpa pasteurizada congelada	3,8763b	4,6907b	4,0412b	3,0412b	4,3196b
Polpa congelada integral	2,5361c	1,8660c	2,3608c	2,1443c	2,4227c
Polpa congelada sem casca	3,7526b	4,5258b	4,5979ab	3,5876b	4,5876b
Polpa liofilizada	5,6907a	8,2680a	5,3196a	5,4536a	6,6598a

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P\leq0,05$) (n=3).

Pode-se inferir dos testes realizados que a amostra do suco tropical da polpa de cambuci congelada integral ainda é sensorialmente a mais similar ao suco tropical proveniente do fruto *in natura*.

Não foram encontrados dados na literatura para comparação com os resultados obtidos.

6.5. Análises microbiológicas

6.5.1. Fruto recém processado

A polpa *in-natura* em tempo zero se apresentou dentro dos padrões exigidos pelos órgãos regulamentadores para presença de *Salmonella* sp. contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes; contagem total de bolores e leveduras; e contagem de microrganismos psicrotróficos.

6.5.2. Contagem coliformes totais e termotolerantes

Os resultados das análises de coliformes totais e termotolerantes foram satisfatórios, para as amostras analisadas (congelada, refrigerada, liofilizada, congelada sem casca, pasteurizada refrigerada e pasteurizada congelada) e estavam dentro dos padrões microbiológicos preconizados pela legislação vigente, de <1,0 (NMP/g) (BRASIL, 2001) para todos os períodos avaliados (1º dia, 15º dia, 30º dia, 45º dia, 60º dia, 75º dia e 90º dia dias).

6.5.3. Salmonella sp.

Os resultados obtidos para todos os tratamentos e períodos de armazenamento foram satisfatórios, de acordo com padrões microbiológicos, preconizados pela legislação vigente (BRASIL, 2001), uma vez que não foi detectada a presença do microrganismo em 25 g de cada amostra analisada.

6.5.4. Contagem total de bolores e leveduras

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 19), pode-se observar que os tratamentos pasteurização+congelamento, pasteurização+refrigeração, liofilização e congelamento sem casca foram eficazes contra a proliferação de microrganismos, ou seja, em todos os tratamentos citados, não existiu contagem de colônias de bolores e leveduras quantificáveis.

Embora tenha sido observado um pequeno crescimento na contagem de colônias de bolores e leveduras das polpas submetidas aos tratamentos de congelamento e de refrigeração, a polpa se mostrou adequada para o consumo de acordo com Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento (MAPA), que

estabelece, por meio da Instrução Normativa nº 1, de 07 de janeiro de 2000, o limite máximo de 5,0x10³ UFC.g^{-1}.

Na comparação os tratamentos congelamento e congelamento sem casca é possível identificar certa diferença na contagem de colônias de bolores e leveduras das polpas, que pode ser explicada pelo interessante potencial micro biótico na casca do fruto.

Tabela 19 - Contagem total de bolores e leveduras nos sete períodos analisados avaliando todos os tratamentos

	Bolores e leveduras (UFC.g^{-1} polpa)					
Dias	Congelamento	Refrigeração	Pasteurização +Refrigeração	Pasteurização +Congelamento	Liofilização	Congelamento
1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
15	3,3 x 10^1	<1	<1	<1	<1	<1
30	4,9 x 10^1	1,5 x 10^1	<1	<1	<1	<1
45	7,7 x 10^1	8,5 x 10^1	<1	<1	<1	<1
60	4,1 x 10^1	5,0 x 10^1	<1	<1	<1	<1
75	10,5 x 10^1	6,0 x 10^1	<1	<1	<1	<1
90	2,2 x 10^1	2,5 x 10^1	<1	<1	<1	<1

6.5.5. Contagem de microrganismos psicrotróficos

Para os tratamentos em questão não existiu contagem de colônias de psicrotróficos, <1 UFC.g^{-1}, com exceção da polpa refrigerada, em seu último período, após noventa dias de armazenamento (Tabela 19).

De acordo com o esperado, os resultados observados na análise de microrganismos psicrotróficos foram satisfatórios para todos os tratamentos, em todos os períodos de armazenamento e conservação.

Tabela 20 - Contagem de microrganismos psicrotróficos nos sete períodos dos diferentes processos de conservação

	Psicrotróficos (UFC.g^{-1} polpa)					
Dias	Congelamento	Refrigeração	Pasteurização +Refrigeração	Pasteurização +Congelamento	Liofilização	Congelamento
1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
15	<1	<1	<1	<1	<1	<1
30	<1	<1	<1	<1	<1	<1
45	<1	<1	<1	<1	<1	<1
60	<1	<1	<1	<1	<1	<1
75	<1	<1	<1	<1	<1	<1
90	<1	6,1 x 10^1	<1	<1	<1	<1

7. CONCLUSÕES

A espécie *Campomanesia phaea* apresentou uma dispersão restrita à Mata Atlântica, embora com algumas ocorrências localizadas fora do estado de São Paulo, sua cadeia de produção está fortemente concentrada no compartimento ambiental no entorno da Serra do Mar paulista, que vai desde o planalto da região metropolitana de São Paulo, até o litoral.

Os levantamentos da cadeia de comercialização da fruta ficaram bem definidos em torno de uma promoção regional chamada “Rota do Cambuci”, que envolve aproximadamente 15 (quinze) municípios da região paulistana, serra do Mar e litoral do estado de São Paulo.

De acordo com os resultados obtidos as polpas de cambuci analisadas apresentaram um teor significativo para vitamina C, sugerindo que as ingestões das mesmas podem contribuir de forma positiva à saúde humana.

Apesar de todos os tratamentos agroindustriais propostos terem sido eficientes em relação a conservação dos padrões de identidade e qualidade, durante o período de armazenamento, as amostras de polpa congelada integral e polpa congelada sem casca foram as que mais se destacaram em relação ao custo/benefício, uma vez que estes tratamentos apresentam menor complexidade em suas operações. Foi também evidenciado que devido a presença de taninos na casca do cambuci, o que resulta em um paladar adstringente, o suco tropical elaborado a partir da polpa dos frutos sem casca foi o preferido pelos provadores.

Os principais compostos voláteis majoritários encontrados nas polpas processadas foram: o linalol para os tratamentos Pasterização+congelamento (23,4%), Pasterização+refrigeração (26,1%) e Congelamento Integral (12,7%); o limoneno para o tratamento congelamento sem casca (11,2%); o 1-hexanol para o tratamento refrigeração (44,4%); e o 1,8 cineol para o tratamento liofilização (16,8%). Observou-se também que as amostras de polpa congelada obtida a partir do fruto sem casca apresentaram teores mínimos de linalol diferindo significativamente dos demais tratamentos. Sugere-se que estudos complementares sejam realizados para avaliar o possível aproveitamento do material residual (casca do cambuci) como matéria prima para extração de linalol, um importante composto de alto valor agregado utilizado na indústria de fármaco-cosméticos, uma vez que o suco tropical proveniente do fruto sem casca teve uma maior aceitação sensorial.

REFERÊNCIAS

ADAMS, J. DAnGerous Trees? **Arboricultural Journal,** London, v. 30, n. 2, p. 95-103, 2007.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oils components by gas chromatography mass spectroscopy**. 4. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007. 804 p. Disponível em: <http://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=nZfQxniFG4AC&oi=fnd&pg=PP1&dq=R+P+Adams&ots=aYZaoaAOC6&sig=E4U_vOCFsKVz-zgM4nGZ7T_KPHY&redir_esc=y#v=onepage&q=R%20P%20Adams&f=false >.

ADATI, R. T.; FERRO, V. D. O. Volatile Oil Constituents of Campomanesia phaea (O. Berg) Landrum. (Myrtaceae). **Journal of Essential Oil Research,** London, v. 18, n. 6, p. 691-692, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2006.9699207>.

AMARO, A. P.; BONILHA, P. R. M.; MONTEIRO, M. Efeito do tratamento térmico nas características físico-químicas e microbiológicas da polpa de maracujá. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 13, p. 151-162, 2002.

ANDRADE, J. D. S.; ARAGÃO, C. G.; FERREIRA, S. A. D. N. Caracterização física e química dos frutos de Araçá-Pêra (Psidium acutangulum). **Acta Amazônia**, Manaus, v. 23, p. 213- 217, 1993.

AOAC. **Official methods of analysisof the AOAC**. Gaithersburg, 2005.

AYHAN, Z. et al. Flavor, color, and vitamin c retention of pulsed electric field processed orange juice in different packaging materials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** Washington, DC, v. 49, n. 2, p. 669-674, 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/jf000984b >.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology,** Oxford, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691507004541 >.

BEZMAN, Y.; ROUSEFF, R. L.; NAIM, M. 2-Methyl-3-furanthiol and methional are possible off-flavors in stored orange juice: aroma-similarity, NIF/SNIF GC−O, and GC analyses. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** Washington, DC, v. 49, n. 11, p. 5425-5432, 2001. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1021/jf010724+ >.

BHAVNANI, S. M.; BALLOW, C. H. New agents for Gram-positive bacteria. **Current Opinion in Microbiology,** London, v. 3, n. 5, p. 528-534, 2000. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S136952740000134X >.

BIANCHINI, F. G. et al. Caracterização morfológica e química de frutos de cambucizeiro. **Bragantia,** Campinas, v. 75, p. 10-18, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87052016000100010&nrm=iso>.

BOEKEL, M. A. J. S. V. Formation of flavour compounds in the Maillard reaction. **Biotechnology Advances,** Oxford, v. 24, n. 2, p. 230-233, 2006. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S073497500500145X>. Acesso em: 20 abr. 2016.

BRASIL. Instrução Normativas nº 01, de 7 de janeiro de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpas e sucos de frutas. Aprova os Regulamentos Técnicos para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpas e sucos de frutas. **Diário Oficial da União,** Brasília, DF, 10 jan, 2000. p. 54-58.

BRESOLIN, J.; HUBINGER, S. Metodologia para determinação de ácido ascórbico em sucos de citrus utilizando cromatografia líquida de alta eficiência. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE INSTRUMENTAÇÃO AGROPECUÁRIA, 2014, São Carlos. Disponível em: http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/115785/1/497siagro-2014-print01.pdf.

BUENO, S. M. R. V. et al. Avaliação da qualidade de polpas de frutas congeladas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 62, p. 121-126, 2002.

CAMARGO, R. et al. **Tecnologia dos produtos agropecuários**: alimentos. São Paulo: Nobel, 1982.

CARVALHO FILHO, J. J. D. A produção de alimentos e o problema da segurança alimentar. **Estudos Avançados,** São Paulo, v. 9, p. 173-193, 1995. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40141995000200008&nrm=iso >.

CASTELUCCI, A. C. L. **Avaliação da estabilidade dos compostos bioativos de polpas de frutas nativas submetidas ao processo de irradiação**. 2015. 133 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

CENTRO DE PESQUISAS ECO-NATURAIS - CEPEN. Cambuci, *Campomanesia phaea*. In: GLOSSÁRIO de Termos Técnicos de Botânica. Carazinho, RS, 2003. Disponível em: <http://www.cepen.com.br/arv_nat_Myrtaceae.htm>. Acesso em: 22 mai. 2014.

CHITARRA, M. I. F. **Tecnologia e qualidade de pós-colheita de frutos e hortaliças** Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 68 p.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças:** Fisiologia e manuseio. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

_____. **Pós-colheita de frutas e hortaliças**: Glossário. Lavras: UFLA, 2006. 256 p.

CORDEIRO, G. D. **Fenologia reprodutiva, polinização e voláteis florais do cambuci (Campomanesia phaea - Myrtaceae)**. Tese (Doutorado em Entomologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

CRONQUIST, A. A. A commentary of the definition of order Myrtales. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, St. Louis, v. 71, p. 780-782, 1984.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900 p.

DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, DC: APHA, 2001. 676 p.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996. 123 p.

FELLOWS, P. **Tecnologia del procesado de los alimentos**: principios y practicas. Zaragoza: Acribia, 2006.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: O Atheneu, 2008. 196 p.

FUJIHARA, M. A. et al. **O valor das florestas**. São Paulo: Editora Terra das Artes, 2009. 347 p.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA; INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica e ecossistemas associados no período de 1995–2000**. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica; INPE, 2001.

GARLET, T. M. B. **Produtividade, teor e composição do óleo essencial de espécies de Me*ntha L. (*Lamiaceae) cultivadas em hidroponia com variação de potásio**. 2007. 113 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

GENOVESE, M. I. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. **Food Science and Technology International,** Ibaraki, Japan, v. 14, p. 207-214, 2008.

GOMES, J. C.; OLIVEIRA, G. F. **Análises físico-químicas de alimentos.** Viçosa: UFV, 2011.

GONÇALVES, A. E. S. S.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Chemical composition and antioxidant/antidiabetic potential of Brazilian native fruits and commercial frozen pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washiongton, DC, v. 58, n. 8, p. 4666-4674, 2010.

GONÇALVES, A. E. S. S. **Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpa de frutas nativas e determinação dos teores de flavonoides e vitamina C**. 2008. 88 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

GONZÁLEZ-MOLINA, E.; MORENO, D. A.; GARCÍA-VIGUERA, C. Genotype and harvesttime influence the phytochemical quality of Fino lemon juice (*Citrus limon* LBurm. F.) for industrial use. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 56, p. 1669–1675, 2008.

HAMINIUK, C. W. I. et al. Chemical, antioxidant and antibacterial study of Brazilian fruits. **International Journal of Food Science & Technology,** Oxford, v. 46, n. 7, p. 1529-1537, 2011.

HOLZKE, C. et al. Diurnal and seasonal variation of monoterpene and sesquiterpene emissions from Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). **Atmospheric Environment**, Amsterdam, v. 40, p. 3174-3185, 2006.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS - ICMSF. **Soft drinks, fruit preserves**: food commedities. London: Academic Press, 1980.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Normas Analíticas**. Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos. 4. ed. São Paulo, 2005. p. 125-131.

KABASAKALIS, V.; SIOPIDOU, D.; MOSHATOU, E. Ascorbic acid content of commercial fruit juices and its rate of loss upon storage. **Food Chemistry,** Barking, v. 70, n. 3, p. 325-328, 2000.

KARWOWSKI, M. S. M. **Estudo da estabilidade, comportamento reológico e dos compostos fenólicos de frutas da Mata Atlântica**. 2011. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

KAWASAKI, M. L.; LANDRUM, L. R. A rare and potentially economic fruit of Brazil, Campomanesia pheaea (Myrtaceae). **Economic Botany,** Heidelberg, v. 51, n. 4, p. 403-405, 1997.

LADANYIA, M. **Citrus fruit: biology, technology and evaluation**. New York: Academic Press, 2010.

LANE, J. H.; EYNON, L. **Determination of reducing sugars by Fehling's solution with methylene blue indicator**. London: Normam Rodge, 1934. 8 p.

LEGRAND, C. D.; KLEIN, R. M. Mirtáceas: C*ampomanesia*. In: REITZ, P. R. (Ed.). **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigue, 1977. p. 573-623. 1977.

LEÃO, M. M. **Características do óleo essencial extraído das folhas de *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum (cambuci) obtido em duas microrregiões da Mata Atlântica**. 2012. 124 p. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) - Engenharia Florestal, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

LIS-BALCHIN, M. et al. Studies on the Mode of Action of the Essential Oil of Lavender (Lavandula angustifolia P. Miller). **Phytotherapy Research**, London, v. 13, p. 540–542, 1999.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 6. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2014. 384 p.

MAGALHÃES, F. A. R. **Métodos descritivos e avaliação sensorial de doce de leite pastoso**. 1996. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.

MAJO, D. D. et al. Flavanones in citrus fruit: Structure–antioxidant activity relationships. **Food Research International,** Ottawa, v. 38, n. 10, p. 1161-1166, 2005. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996905000773>.

MARQUES, M. O. M. et al. **Essential oils**: history, biosynthesis, and agronomic aspects. medicinal essential oils: chemical, pharmacological and therapeutic aspects. New York: Nova Science Publishers, 2012.

MARÓSTICA, M. R. J. **Biotransformação de terpenos para a produção de compostos de aroma e funcionais**. 2006. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) –Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

MCLAFFERTY, F. W.; STAUFFER, D. B. **The Wiley/NBS registry of mass spectral data**. New York: John Wiley, 1989.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**: CRC Press LLC 2007.

MERCK. **The Merck Index**. 12. Ed. Whitehouse Station, NJ: Merck Sharp and Dohme, 1996. 996 p.

MINOLTA, K. **Comunicação precisa da cor**: controle de qualidade da percepção à instrumentação. Osaka, Japan, 1998. 59 p.

MOTTRAM, D. S. A. Aroma. In: MACRAE, R.; ROBINSON, R. K.; Sadler, M. J. (Ed.). **Encyclopaedia of Food Science, Food Technology, and Nutrition**. London: Academic Press, 1993. p. 4065-4071.

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

NARAIN, N. et al. Compostos voláteis dos frutos de maracujá (Passiflora edulis forma flavicarpa) e de cajá (Spondias mombin L.) obtidos pela técnica de headspace dinâmico. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, v. 24, p. 212-216, 2004.

PEANA, A. T. et al. (−)-Linalool inhibits in vitro NO formation: Probable involvement in the antinociceptive activity of this monoterpene compound. **Life Sciences,** Amsterdam, v. 78, n. 7, p. 719-723, 2006. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320505007216 >.

PERRIN, A.; COLSON, M. **Exposition Parfums de Plantes**. Sites d'accumulation des essences chez quelques plantes aromatiques. Paris: Museum National d'Histoire Naturelle, 1987.

POLYDERA, A. C.; STOFOROS, N. G.; TAOUKIS, P. S. Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurised and high pressure processed reconstituted orange juice. **Journal of Food Engineering,** London, v. 60, n. 1, p. 21-29, 2003. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877403000062>.

RANNOU, C. et al. Odour quality of spray-dried hens' egg powders: the influence of composition, processing and storage conditions. **Food Chemistry,** Barking, v. 138, n. 2-3, p. 905-914, 2013. Disponível em: <http://europepmc.org/abstract/MED/23411195>.

RAPISARDA, P. et al. Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes [Citrus sinensis (L.) Osbeck]. **Postharvest Biology and Technology,** Amsterdam, v. 49, n. 3, p. 348-354, 2008. isponível em: < http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-46549087145&partnerID=40&md5=b14925f3e8e45d6b89761c86bf53f6d8 >.

REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J. T. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. **Annual Review of Entomology**, v. 57, p. 405-424, 2012.

ROOS, K. B. et al. The chemistry of flavor interactions. **Food Technology**, Chicago, v. 51, p. 59-80, 1997.

RYNAL, A.; AUBAILE-SALLENAVE, F. **Le monde de plantes, un monde d'odeurs**. Paris: Muséum National d'Histoire Naturelle, 1988. 256 p.

SANCHES, M. C. R. **Caracterização do fruto de cambuci (Campomanesia phaea O. Berg.) e efeito da destanização sobre o potencial funcional in vitro**. 2013. 160 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

SAS INSTITUTE. **SAS/QC software**: usage and reference. 2. ed. Cary, NC, 2010.

SIANI, A. C. et al. Óleos essenciais: potencial antiinflamatório. **Biotecnologia: Ciência e desenvolvimento,** Natal, v. 16, p. 38-43, 2000.

SILVA, D. D. et al. Quantificação do linalol no óleo essencial da Aniba duckei Korstermans utilizando uma nova coluna capilar POLYH4-MD em Cromatografia Gasosa. **Química Nova,** São Paulo, v. 26, p. 461-465, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422003000400002&nrm=iso >.

SILVA, I. G. et al. Characterization study of cambuci fruit *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum and its application in jelly processing. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos,** Curitiba, v. 30, n. 1, p. 83-90, 2012.

SILVA, N. D.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. D. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010. Disponível em: < https://books.google.com.br/books?id=p6Q3NAAACAAJ >.

SIQUEIRA, R. S.; BORGES, M. F. Microbiologia de frutas e produtos derivados. In: TORREZAN, R. (Coord). **Curso de processamento de frutas**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos; SEBRAE, 1997. p. 2-13.

FUNDAÇÃO SOS Mata Atlântica. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica**. Período 2013-2014. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica; INPE, 2015. Disponível em: http://mapas.sosma.org.br/site_media/download/atlas_2013-2014_relatorio_tecnico_2015.pdf.

SOUZA, A. **Variabilidade dos óleos voláteis de espécies de My*rtaceae n*ativas da Mata Atlântica.** 2009. 351 p. Tese (Doutorado em Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil em APG II. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarium, 2008. 640 p. Disponível em: < http://books.google.com.br/books?id=ZSMIAQAAMAAJ >.

SPOTO, M. H. F. Conservação de frutas e hortaliças pelo calor. In: OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos.** Barueri: Manole, 2006. cap. 11, p. 511-564.

SAS INSTITUTE. **SAS/QC software**: usage and reference (version 6). 2. ed. Cary, NC, 1996. 1 CDROM.

STONE, H.; SIDEL, J. **Sensory evaluation practices**. New York: Academic Press, 1993. 338 p.

SUGAI, A. Y. et al. Análise físico-química e microbiológica do suco de laranja minimamente processado armazenado em lata de alumínio. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 22, p. 233-238, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612002000300006&nrm=iso >.

UBOLDI, E. M. N. Microorganismos deteriorantes de suco de frutas e medidas de controle. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 141-160, 1989.

VALLILO, M. I. et al. Características físicas e químicas dos frutos do cambucizeiro (*Campomanesia phaea*). **Revista Brasileira de Fruticultura,** Jaboticabal, v. 27, p. 241-244, 2005. ISSN 0100-2945. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452005000200014&nrm=iso >.

VAN DEN DOOL, H.; DEC. KRATZ, P. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A,** Amsterdam, v. 11, p. 463-471, 1963. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002196730180947X >.

VETO, M. **Análise da variação genética adaptativa em populações naturais de E*ugenia uniflora L*.(Myrtaceae)**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2015.

ZAPATA, S., DUFOUR, J. P. Ascorbic, dehydroascorbic and isoascorbic and simultaneous determinations by reverse phase ion interaction HPLC. **Journal of Food Science and Technology,** Mysore, v. 57, p. 506–511, 1992.

8. Trabalhos apresentados em conferências internacionais

Agricultural Research Abstracts Ninth Annual International Symposium on Agricultural Research, 11-14 July 2016, Athens, Greece ISBN: 978-960-598-063-4 https://correio.usp.br/service/home/~/2016ABST-AGR.pdf?auth=co&loc=pt_BR&id=38763&part=2

- Essential Oil Production from a Brazilian Native Myrtaceae – Cambuci (Campomanesia Phaea)

ATHENS INSTITUTE FOR EDUCATION AND RESEARCH

8 Valaoritou Str., Kolonaki, 10671 Athens, Greece. Tel.: 210-36.34.210 Fax: 210-36.34.209
Email: atiner@atiner.gr URL: www.atiner.gr

Athens, 21 October 2015

Giovanna Fachini Dellaqua, MSc Student, University of São Paulo
Marcelo Machado Leão, Post-doctoral, DepartmentofForest Sciences, Universityof São Paulo (ESALQ/USP)
Marta Helena Fillet Spoto, Research and Professor, University of São Paulo (ESALQ/USP), Piracicaba, São Paulo, Brazil
Márcia Ortiz Maio Marques, Scientific Researcher, Instituto Agronômico (IAC) of Campinas
José Otávio Brito, Research and Professor, Universityof São Paulo (ESALQ/USP)
Brazil

Our Ref: AGR2016/1003012

Dear Colleagues,

I would like to inform you that the selection academic committee has decided to invite you to speak at our **9th Annual International Symposium on Agricultural Research, 11-14 July 2016, Athens, Greece** on the topic of:

Essential Oil Production from a Brazilian Native *Myrtaceae*-Cambuci (*Campomanesia Phaea*)

Please be prepared for an **oral presentation in English only** of 15-20 minutes including discussion and visit the conference website http://www.atiner.gr/agriculture.htm for more information. Confirm your participation by completing and sending the registration form **before 14 December 2015** by fax, regular mail or email. The registration form can be downloaded from http://www.atiner.gr/REG-FORM.doc.

For your convenience, a special conference rate has been arranged with a local hotel to be announced 1-2 weeks before the conference. Please complete the registration form for the nights you want accommodation for. Reservations should be made as soon as possible as the offer only stands as long as rooms are available. If you need more information on the accommodation please send us an email (not to the hotel itself) at hotel@atiner.gr. The conference's social program is available on http://www.atiner.gr/2016/SOC-AGR.htm. These are academic events which give the opportunity to our conference participants to further discuss the issues developed during the formal sessions and establish academic collaborations with other scholars from many different countries.

If you want your paper to be considered (peer reviewed) for publication and only then, please submit your manuscript by **13 June 2016** following the paper guidelines, which can be downloaded from: http://www.atiner.gr/docs/Paper_Guidelines.htm. **Papers cannot exceed 5000 words (everything included) and must be sent by email only.** For more information, please see our abstract and paper publication policy on http://www.atiner.gr/acceptance.htm. **Please do not submit your paper if you do not want it to be published by ATINER.**

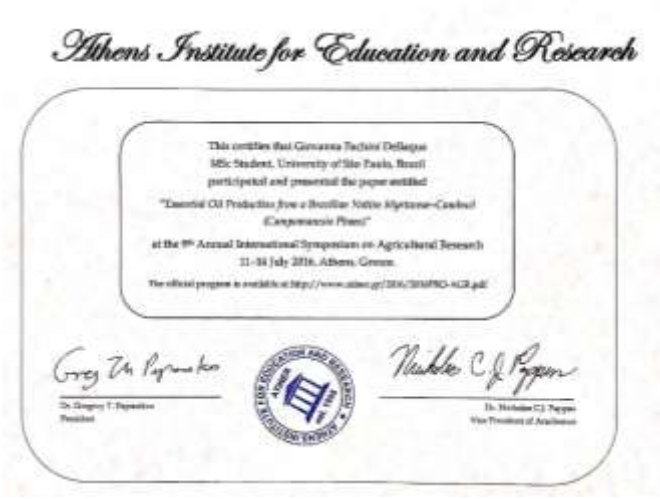
Please support ATINER by asking your library to order our publications from previous conferences, either as books or selected conference proceedings. Visit our publications website for contents and order forms (http://www.atiner.gr/docs/BOOK_PUBLICATIONS.htm).

I look forward to meeting you in Athens.

Sincerely,

Greg Th Papanikos

Dr. Gregory T. Papanikos, President



Athens Institute for Education and Research

This certifies that Giovanna Fachini Dellaqua
MSc Student, University of São Paulo, Brazil
participated and presented the paper entitled
"Essential Oil Production from a Brazilian Native Myrtaceae-Cambuci (Campomanesia Phaea)"
at the 9th Annual International Symposium on Agricultural Research
11-14 July 2016, Athens, Greece.
The official program is available at http://www.atiner.gr/2016/SYMPRO-AGR.pdf

Dr. Gregory T. Papanikos
President

Dr. Nicholas C.J. Poppen
Vice President of Attendance

9th Annual International Symposium on Agricultural Research
11-14 July 2016, Athens, Greece: Abstract Book

Giovanna Fachini Dellaqua
MSc Student, University of São Paulo, Brazil
Marcelo Machado Leão
Post-doctoral, University of São Paulo, Brazil
Marta Helena Fillet Spoto
Research and Professor, University of São Paulo, Brazil
Márcia Ortiz Maio Marques
Scientific Researcher, Instituto Agronômico of Campinas, Brazil
&
José Otávio Brito
Research and Professor, University of São Paulo, Brazil

Essential Oil Production from a Brazilian Native *Myrtaceae*–Cambuci (*Campomanesia Phaea*)

Bioprospecting molecules of native Brazilian flora enables the discovery of active principles that help enterprises to battle in the competitive market alwayslacking innovation.

This study investigated the chemical composition of the essential oil of leaves of thespecies Campomanesia phaea (O. Berg.) Landrum (cambuci)inthe botanical family Myrtaceaethat hasrestricted occurrence in the Atlantic Forest biome.

The studied sites are located in the Tropical Rain Forest (TRF) in the microregion of Paraibuna-SP and in the Seasonal Semideciduous Forest (SSF) in the microregion of Limeira-SP, both belonging to the Atlantic Forest biome.

We studied the possibility to developnew products with essential oilsfor industriesof foods, beverages, perfumes, pharmaceuticals, and cosmetics. Thus, essential oils were extract ata pilot plant of steam distillation under controlled conditions of pressure and temperature.

The average yield of essential oilsfrom leaves of *Campomanesia phaea*collected in microregion of Limeira -SP (SSF) showed higher values compared to those from leaves collected in Paraibuna -SP (TRF).

The analysis of the chemical composition of the essential oils extracted from *Campomanesia phaea*allowed to detectthe presence of 29 chemical substances. The main compounds found were: *trans-beta-ocimene, linalool, trans-caryophyllene, bicyclogermacrene, trans-nerolidol* and*caryophyllene oxide*.

The useof Campomanesia phaea (cambuci) species couldbe a good alternative from a social, economic and environmentalperspective, as it has potential to provide employment opportunities and income increases to traditional communities, including, indigenous peoples, allowing a sustainable use of inputs from the Brazilian biodiversity.

- The Potential of Campomanesia phaea O. Berg Landrum (Cambuci) as Natural Source of Vitamin”

ATHENS INSTITUTE FOR EDUCATION AND RESEARCH
8 Valaoritou Str., Kolonaki, 10671 Athens, Greece. Tel.: 210 36.34.210 Fax: 210 36.34.209
Email: atiner@atiner.gr URL: www.atiner.gr

Athens, 19 November 2015

Marcelo Machado Leão, Post-doctoral
Department of agribusiness, nutrition and food , University of São Paulo (ESALQ/USP)
Giovanna Fachini Dellaqua, Master
Center for Nuclear Energy in Agriculture, University of São Paulo(CENA/USP)
Marta Helena Fillet Spoto, Research and Professorof
Department of agribusiness, nutrition and food, University of São Paulo (ESALQ/USP)
Silviane Zanni Hubinger, LaboratoryManagementAnalyst of Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária,Embrapa Instrumentação Agropecuária (EMBRAPA)
Marcos David Ferreira, Research of University of São Paulo
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Instrumentação Agropecuária (EMBRAPA)
Brazil

Our Ref: AGR2016/1614023

Dear Colleagues,

I would like to inform you that the selection academic committee has decided to invite you to speak at our **9th Annual International Symposium on Agricultural Research, 11-14 July 2016, Athens, Greece** on the topic of:

The potential of *Campomanesia phaea*(cambuci)as natural sourceofvitamin C

Please be prepared for an **oral presentation in English only** of 15-20 minutes including discussion and visit the conference website http://www.atiner.gr/agriculture.htm for more information. Confirm your participation by completing and sending the registration form **before 21 December 2015** by fax, regular mail or email. The registration form can be downloaded from http://www.atiner.gr/2016/REG-AGR.doc.

For your convenience, a special conference rate has been arranged with a local hotel to be announced 1-2 weeks before the conference. Please complete the registration form for the nights you want accommodation for. Reservations should be made as soon as possible as the offer only stands as long as rooms are available. If you need more information on the accommodation please send us an email (not to the hotel itself) at hotel@atiner.gr. The conference's social program is available on http://www.atiner.gr/2016/SOC-AGR.htm. These are academic events which give the opportunity to our conference participants to further discuss the issues developed during the formal sessions and establish academic collaborations with other scholars from many different countries.

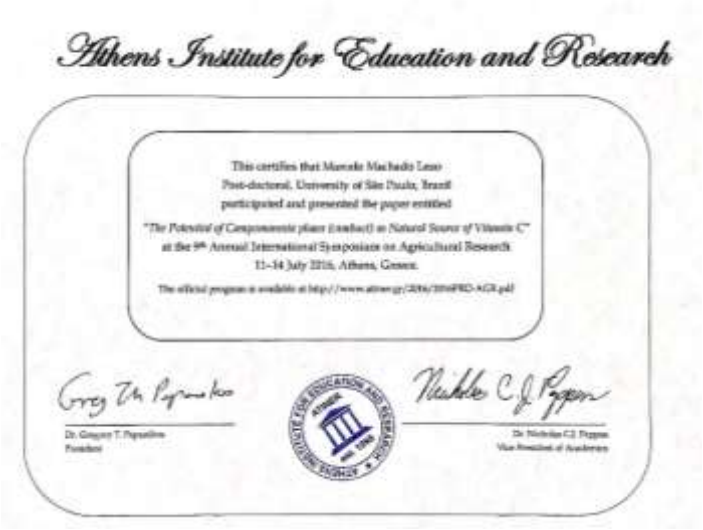
If you want your paper to be considered (peer reviewed) for publication and only then, please submit your manuscript by **13 June 2016** following the paper guidelines, which can be downloaded from: http://www.atiner.gr/docs/Paper_Guidelines.htm. **Papers cannot exceed 5000 words (everything included) and must be sent by email only.** For more information, please see our abstract and paper publication policy on http://www.atiner.gr/acceptance.htm. **Please do not submit your paper if you do not want it to be published by ATINER.**

Please support ATINER by asking your library to order our publications from previous conferences, either as books or selected conference proceedings. Visit our publications website for contents and order forms (http://www.atiner.gr/docs/BOOK_PUBLICATIONS.htm).

I look forward to meeting you in Athens.

Sincerely,

Dr. Gregory T. Papanikos, President



Athens Institute for Education and Research

This certifies that Marcelo Machado Leao
Post-doctoral, University of São Paulo, Brazil
participated and presented the paper entitled
"The Potential of Campomanesia phaea (cambuci) as Natural Source of Vitamin C"
at the 9th Annual International Symposium on Agricultural Research
11-14 July 2016, Athens, Greece.

The official program is available at http://www.atiner.gr/2016/2016FRD-AGR.pdf

Dr. Gregory T. Papanikos
President

Dr. Nicholas C.J. Poppas
Vice President of Academics

9th Annual International Symposium on Agricultural Research
11-14 July 2016, Athens, Greece: Abstract Book

Marcelo Machado Leao
Post-doctoral, University of São Paulo, Brazil
Giovanna Fachini Dellaqua
MSc Student, University of São Paulo, Brazil
Marta Helena Fillet Spoto
Research and Professor, University of São Paulo, Brazil
Márcia Ortiz Maio Marques
Scientific Researcher, Instituto Agronômico of Campinas, Brazil
&
José Otávio Brito
Research and Professor, University of São Paulo, Brazil

The Potential of *Campomanesia phaea* (cambuci) as Natural Source of Vitamin C

Bioprospecting molecules of native Brazilian flora enables the discovery of essential active principles to innovation in the market. The L-ascorbic acid (vitamin C), compound found naturally in fruits and vegetables, iswidely used as an indicator of the quality of vegetables and foods during processing and storage.

The present study used the HighPerformance Liquid Chromatography for quantify the L-ascorbic acid inthefruit of Campomanesia phaea (cambuci) species cambuciand had the purpose of evaluation the loss of vitamin C during the storage of the species Campomanesia phaea (O. Berg.) Landrum (cambuci)frozen pulp comparing the pasteurized product with the one that was not submitted to a thermal treatment thathas restricted occurrence in the Atlantic Forest biome.

This studyfounded a significant amountof L-ascorbic acid. The initiallevelsof vitaminCshowedto be2times higher thanorange. The loss of vitamin C between cambuci freezing pulpsthermally treated and in freezing pulp was measured during 90 days of storage. Both pulps presented significant decrease of vitamin C during the freezing storage, the pulp that was pasteurized evidenced higher loss.

The inclusion of fruit of Campomanesia phaea (cambuci) in the diet could be an alternative source to increased consumption of natural vitamin C, also encouraging the marketing of a fruit native to Brazil, providing employment opportunities and income increases to traditional communities, allowing a sustainable use of inputs from the Brazilian biodiversity.

9. Artigos publicados em revistas científicas indexadas

Athens Journal of Sciences, vol. 4, issue 1, March 2017, p. 37-46 Conference Paper Series nº: AGR2016-1993. ISSN: 2241-2891. Disponível em: http://www.athensjournals.gr/sciences/2017-4-1-3-Leao.pdf.

The Potential of Campomanesia phaea O. Berg Landrum (Cambuci) as Natural Source of Vitamin

By Marcelo Machado Leao *
Giovanna Fachini Dellaqua†
Marcos David Ferreira‡
Silviane Zanni Hubinger+
Marcia Ortiz Mayo Marques•
Marta Helena Filet Spoto♦

Fruit is an essential part of a healthy diet preventing risks. This protective action has been attributed mainly to its bioactive compounds, which have antioxidant properties. Ascorbic acid, also named vitamin C, is the most important water-soluble reducing compound naturally present in fruit and vegetables that contributes to antioxidant defense against oxidative stress. Vitamin C is often used as a nutritional quality indicator of fruit and vegetables. Still little is known scientifically for the endemic species in Brazil's São Paulo State located in the Atlantic Forest biome, the Campomanesia phaea (O.Berg) Landrum (cambuci) from the family of Myrtaceae, traditionally used by communities in this region. This study evaluated the cambuci fruit in nature and the fruit pulp when submitted to different conservation treatments for the evaluation of levels of vitamin C (L-ascorbic acid), an important indicator of the quality of fruits and foods during processing and storage. The evaluation of the vitamin C content was performed by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), when subjected to pasteurization and freezing during different periods of conservation. The results showed that the cambuci have average significant levels of L-ascorbic acid (66.94mg / 100g of cambuci). After the agro-industrial treatments, the pulp showed significant decreases ($p \leq 0.65$) of L-ascorbic, however, it still exhibited significant mean levels, the initial content being 51.04 mg / 100g cambuci, for frozen pasteurized pulp and 62.15 mg / 100g cambuci to frozen pulp. Thus, the study showed that the inclusion of Campomanesia phaea (cambuci) in the human diet could be an alternative source to provide vitamin C, and could provide opportunities, employment and income increase for traditional communities, stimulating the growth for an important local business chain, taking advantage of the Brazilian biodiversity.

Keywords: *Atlantic Forest biome, Cambuci, Campomanesia phaea, Fruit pulp, L-ascorbic acid, Vitamin C.*

* Scientific Researcher, University of Sao Paulo (ESALQ/USP), Brazil.
† Master Student, University of Sao Paulo (ESALQ/USP), Brazil.
‡ Scientific Researcher, Brazilian Agricultural Research Corporation, Brazil.
+ Analyst A, Brazilian Agricultural Research Corporation, Brazil.
• Scientific Researcher, Agronomical Institute of Campinas, Brazil.
♦ Professor, University of Sao Paulo (ESALQ/USP), Brazil

Introduction

The agribusiness of citrus's pulps, juices and tropical fruit is very relevant nowadays, mainly due to the association of consumption with health benefits. The species *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum popularly known in Brazil as "cambuci" or "cambucizeiro" (Myrtaceae) is included in the subfamily Myrtoideae. In Brazil, it naturally occurs in the states of São Paulo, mainly in the Serra do Mar (Lorenzi, 2014).

The fruit of *Campomanesia phaea* is exotic, with interesting aromatic properties as flavouring agents. They are used by the local population in foods and beverages as juice, ice cream, jellies and sweets to stress the flavour (Adati and de Oliveira Ferro, 2006; Adati, 2001; Leão, 2012; Lorenzi, 2014; Mathias and Andrade, 2011). They are astringent and have antioxidant properties, so when included in products they may help in healthy diets (De Souza Schmidt Gonçalves et al., 2010; Donado-Pestana et al., 2015; Haminiuk et al., 2011).

The cambuci plant could be considered a rare fruit with high economic value and environmental impacts, which influences the local business chain and contributes to the sustainable development of local society (Adati, 2001; Adati and de Oliveira Ferro, 2006; Kawasaki and Landrum, 1997; Leão, 2012).

Fruit is an essential part of a healthy diet in order to prevent health risks. These include aging -induced oxidative stress, cardiovascular disorders, diverse degenerative diseases and inflammatory responses (Block et al., 1992; Kalt et al., 1999; Nicoli et al., 1999; Zafra-Stone et al., 2007). This protective action has been attributed mainly to cambuci fruit bioactive compounds, which have antioxidant properties as L-ascorbic and compound phenolic.

L-Ascorbic acid, also named vitamin C, is the most important water-soluble reducing compound naturally present in fruit and vegetables that contribute to antioxidant defense against oxidative stress (Jayaprakasha and Patil, 2007; Plaza et al., 2006). However, ascorbic acid is readily oxidized and lost in pulp and juices, so the rates depend on the time of processing and/or conditions of storage. Because of its heat-labile properties and instability, it is often used as an indicator of the nutritional quality of foods (Cortes et al., 2008; Polydera et al., 2003; Zulueta et al., 2010). Because of its heat-labile properties and instability during storage, ascorbic acid is often used as an indicator for the overall quality of fruit and vegetables, providing information about loss of other vitamins as well as organoleptic and/or nutritional components (Cortes et al., 2008; Polydera et al., 2003; Zulueta et al., 2010).

The fruit pulp technology process is a conservation method that extends self-life allowing its commercialization in different periods of the year and in different forms. Thus, the processing of vegetables generally shows an interesting possibility for their commercial use. Thermal pasteurization is one of the most widely applied techniques to ensure the conservation of pulp, successful in preventing enzymatic changes and microbial spoilage ensuring food safety and improving the shelf life of the product (Abid et al., 2014; Asami et al., 2003). However, thermal decomposition is the most common

cause of undesirable biochemical changes, especially antioxidants that affect the sensory and nutritional quality of the final product (Abid et al., 2014; Aguilar-Rosas et al., 2007; Rawson et al., 2011).

This study evaluated the vitamin C levels in the pulp of cambuci fruit in its natural state and when submitted to different conservation treatments, as L-ascorbic acid is an important indicator of the quality of fruit and foods during processing and storage.

Materials and Methods

Fruit Pulps

Plant materials: Composite samples from the fruit of Campomanesia phaea (O. Berg.) Landrum (cambuci) were collected in the natural zone area of the species: the cities of Paraibuna and Natividade da Serra, both in the state of São Paulo/Brazil. Those locations are classified as Tropical Rain Forests (TRF).

Pulps: The analyzed pulps were obtained after processing the plant materials at the Department of Agroindustry, Food and Nutrition (LAN) at the College of Agriculture "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP) (Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição - LAN - da Escola de Agronomia "Luiz de Queiroz" - ESALQ/USP) in Piracicaba, State of São Paulo.

Ascorbic Acid Determination

The analysis was carried out at the Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa (EMBRAPA Instrumentation) in São Carlos, State of São Paulo.

The method applied was described by Bresolin & Hubinger (Bresolin and Hubinger, 2014). The samples were processed to a known volume with metaphosphoric acid 3 % (w/v), filtered through a disposable filter of hydrophilic Teflon (0,45 µm porosity) and placed in a vial. The L-ascorbic acid was defined using an Agilent C18 column (2.5 x 25 mm, 5 µm), and phosphate buffer at pH 2.5 as a mobile phase. The liquid chromatographer used as a pattern varied with UV-Visible detector set to 254 nm reading. The mobile phase flow rate was 1.0 ml / min and the injection volume was 20 µL. The L-ascorbic acid (purity $\geq$ 99.0 %) used as a standard was obtained from Sigma Life Science. The entire experiment was performed in triplicate.

Statistical Analysis

This study adopted the range of a 5% level. All inference procedures were preceded by average tests of Tukey.

Results and Discussion

Standard Ascorbic Acid Solution

The correlation of standard ascorbic acid concentrations (x) vs measured (y) concentrations of ascorbic acid in the pulp of the cambuci fruit was determined by the analysis of standard solutions prepared from ascorbic acid. A correlation was calculated for each period (Table 1).

Table 1. *Standard Solutions Equations for Each Period*

Day	Correlation of ascorbic acid (x) vs concentrations (y)
01	C = (A + 3.5933) / 0.4923
15	C = (A + 3.5933) / 0.4923
30	C = (A + 0.4179) / 0.7417
45	C = (A + 0.0624) / 0.7566
60	C = (A + 0.7750) / 0.8042
75	C = (A – 1.5329) / 0.7487
90	C = (A – 1.5329) / 0.9970

C: Concentrations of ascorbic acid, A: Area of peak

Fruit and Fruit's Pulp

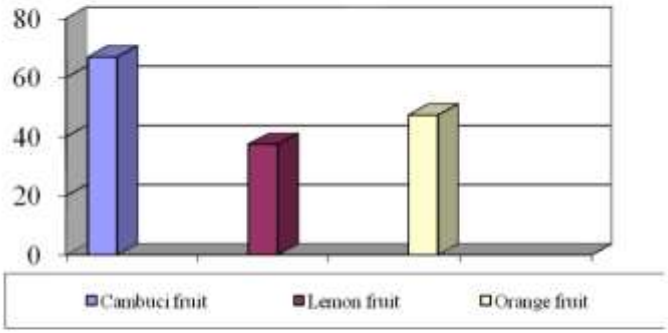
According to Table 2 and Graph 1, the initial vitamin C average in cambuci fruit presented 141.46 % (66.94 mg/100 g pulp) more than in orange fruit (47.32 mg / 100 g) and 179.04 % more than in lemon fruit (37.39 mg/ 100g). The orange juice is a highly valued product representing a significant source of vitamin C (Majo et al., 2005; Rapisarda et al., 2008; Ayhan et al., 2001; Bezman et al., 2001), thus the cambuci fruit can be an alternative source of vitamin C.

Table 2. *Average Levels of Vitamin C in Fruit*

Fruit	Vitamin C mg/100 g of pulp	Average mg/100 g of pulp
Cambuci sample 1	45.074	66.94
Cambuci sample 2	74.847	
Cambuci sample 3	80.904	
Fresh Lime *	37.39	37.39
Fresh navel orange*	56.90	47.32
Citrus aurantium L.*	34.70	
Fresh lime orange *	43.50	
Fresh flash orange *	53.70	
Fresh valencia orange *	47.80	

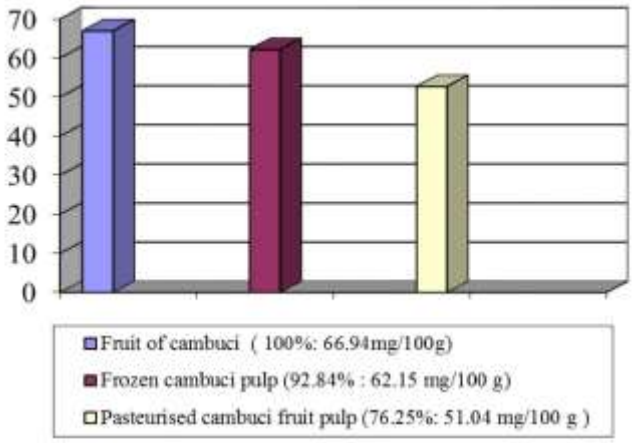
*Tabela brasileira de composição de alimentos Campinas (NEPA-UNICAMP)

Graphic 1. *Average Levels of Vitamin C Content in Fruit*



The results of ascorbic acid amounts presented significant differences between the agroindustrial process at a 5% of statistical significance (Table 3 and Graph 2). The ascorbic acid initial average in frozen pulp is 92.84 % out of the concentration on fresh fruit. The frozen-pasteurized pulp presented 76.25 % out of the concentration on fresh fruit. The ascorbic acids' initial average in frozen pulp represents 121.77 % of the detected concentration in frozen-pasteurized pulp.

Graphic 2. *Average Levels of Vitamin C Content in Agroindustrial Process*



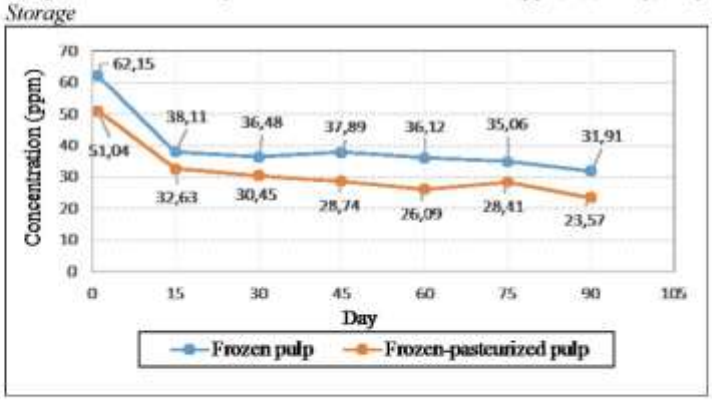
Along the storage period for both treatments, the analyzed cambuci pulps presented a significant reduction of the initial amount of vitamin C (Table 3 and Graph 3), according to works about other species (Kabasakalis et al., 2000). After 90 days, the highest average percentage of accumulated loss was

detected in frozen-pasteurized pulp (53.82%), with an average of 23.57 mg vitamin C / 100 g. The frozen pulp presented the lower average percentage of loss (48.66 %), with an ascorbic acid average content of 31.91 mg/100 g at 90 days (Table 3 and Graph 3).

Table 3. *Average Loss of Vitamin C in Storage Pulp Cambuci Samples for 90 Days: Frozen-pasteurized and Frozen Cambuci*

Day	Frozen pulp (mg of ascorbic acid / 100g of pulp)	Average loss (%)	Frozen- pasteurized pulp (mg of ascorbic acid / 100g of pulp)	Average loss (%)
01	62.15 A a	0	51.04 B a	0
15	38.11 A b	38.68	32.63 B b	36,07
30	36.48 A bc	41.30	30.45 B bc	40.34
45	37.89 A bc	39,03	28.74 B bcd	43.69
60	36.12 A bc	41.88	26.09 B cd	48.89
75	35.06 A bc	43.59	28.41 B bcd	44.33
90	31.91 A c	48.66	23.57 B d	53.82

Graph 3. *Correlation of Ascorbic Acid Concentration (ppm) (x) vs (y) Day of Storage*



Lo Scalzo et al. (2004) founded the loss values to orange juice pasteurized (42,69mg of ascorbic acid /100mL) when compared to Frozen- pasteurized cambuci pulp (51.04 69mg of ascorbic acid /100mL of pulp).

According to Kabasakalis et al. (2000), along the storage period, the pasteurized orange juice after 31 days presented a significant reduction (13.08 mg of ascorbic acid / 100g of pulp) of initial amount of vitamin C.

After 30 days, an average of 30.45mg vitamin C / 100 g of pulp was detected in the cambuci pulp, that is a highest value than orange juice.

Because of its instability, the ascorbic acid could be an index to evaluate the effect from agroindustrial process on retention of nutrient (Polydera et al.,

2003). The results of this study demonstrated that ascorbic acid reduction was higher in frozen-pasteurized cambuci pulp than in frozen cambuci pulp. The processing method chosen, longer processing time, higher processing temperatures and cutting or maceration of the food have been known to cause significant losses of vitamins. High temperature accelerates reactions, which would occur more slowly at room temperature. However, freezing is enough to stabilize the ascorbic acid in storage fruit pulp.

Conclusions

To conclude, the cambuci fruit presented significant amounts of vitamin C compared with orange and lemon, proving that it can be an alternative source of vitamin C. Also the vitamin C losses were higher in pasteurization-frozen pulps (53.82 % average loss) than in simply frozen pulps (48.66 % average loss). The pasteurization may increase the loss of vitamins at fruit's pulp. In the other hand, the ascorbic acid was relatively stable during storage post freezing process. Limited information is available on the ascorbic acid in cambuci at processing and storage. It is important implement other studies to complement the knowledge about the shelf-life of frozen and frozen-pasteurized pulp of cambuci fruit.

References

Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M. M., Hu, B., Lei, S., & Zeng, X. 2014. Sonication enhances polyphenolic compounds, sugars, carotenoids and mineral elements of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(1): 93-97.

Adati, R. T. 2001. *Estudo Biofarmacognóstico Campomanesia phaea (O. Berg.) Landrum. Myrtaceae* [Study Biofarmacognóstico Campomanesia phaea (O. Berg.) Landrum. Myrtaceae]. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Adati, R. T., & de Oliveira Ferro, V. 2006. Volatile Oil Constituents of Campomanesia phaea (O. Berg) Landrum. (Myrtaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 18(6): 691-692.

Aguilar-Rosas, S. F., Ballinas-Casarrubias, M. L., Nevarez-Moorillon, G. V., Martin-Belloso, O., & Ortega-Rivas, E. 2007. Thermal and pulsed electric fields pasteurization of apple juice: Effects on physicochemical properties and flavour compounds. *Journal of Food Engineering*, 83(1): 41-46.

Asami, D. K., Hong, Y. J., Barrett, D. M., & Mitchell, A. E. 2003. Processing-induced changes in total phenolics and procyanidins in clingstone peaches. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(1): 56-63.

Ayhan, Z., Yeom, H. W., Zhang, Q. H., & Min, D. B. 2001. Flavor, Color, and Vitamin C Retention of Pulsed Electric Field Processed Orange Juice in Different Packaging Materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2): 669-674.

Bezman, Y., Rouseff, R. L., & Naim, M. 2001. 2-Methyl-3-furanthiol and Methional Are Possible Off-Flavors in Stored Orange Juice: Aroma-Similarity, NIF/SNIF

GC−O, and GC Analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11): 5425-5432.

Block, G., Patterson, B., & Subar, A. 1992. Fruit, vegetables, and cancer prevention: A review of the epidemiological evidence. *Nutrition and Cancer*, 18(1): 1-29.

Bresolin, J., & Hubinger, S. 2014. Metodologia para determinação de ácido ascórbico em sucos de citrus utilizando cromatografia liquida de alta eficiência [Methodology for determination of ascorbic acid in citrus juices using high-performance liquid chromatography]. Simpósio Nacional de Instrumentação Agropecuária, 497-500.

Cortes, C., Esteve, M. J., & Frigola, A. 2008. Effect of refrigerated storage on ascorbic acid content of orange juice treated by pulsed electric fields and thermal pasteurization. *European Food Research and Technology*, 227(2): 629-635.

De Souza Schmidt Goncalves, A. E., Lajolo, F. M., & Genovese, M. I. 2010. Chemical composition and antioxidant/antidiabetic potential of Brazilian native fruits and commercial frozen pulps. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(8): 4666-4674.

Donado-Pestana, C. M., Belchior, T., Festuccia, W. T., & Genovese, M. I. 2015. Phenolic compounds from cambuci (Campomanesia phaea O. Berg) fruit attenuate glucose intolerance and adipose tissue inflammation induced by a high-fat, high-sucrose diet. *Food Research International*, 69: 170-178.

Haminiuk, C. W. I., Plata-Oviedo, M. S. V., Guedes, A. R., Stafussa, A. P., Bona, E., & Carpes, S. T. 2011. Chemical, antioxidant and antibacterial study of Brazilian fruits. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(7): 1529-1537.

Jayaprakasha, G., & Patil, B. S. 2007. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food Chemistry*, 101(1): 410-418.

Kabasakalis, V., Siopidou, D., & Moshatou, E. 2000. Ascorbic acid content of commercial fruit juices and its rate of loss upon storage. *Food Chemistry*, 70(3): 325-328.

Kalt, W., Forney, C. F., Martin, A., & Prior, R. L. 1999. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(11): 4638-4644.

Kawasaki, M. L., & Landrum, L. R. 1997. A rare and potentially economic fruit of Brazil, Campomanesia pheaea (Myrtaceae). *Economic Botany*, 51(4): 403-405.

Leão, M. M. 2012. *Caracteristicas do óleo essencial extraido das folhas de Campomanesia phaea (O. Berg.) Landrum (cambuci) obtido em duas microrregiões da Mata Atlântica*. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ) Universidade de São Paulo (USP), Biblioteca digital da USP.

Lo Scalzo, R. et al. Effect of thermal treatments on antioxidant and antiradical activity of blood orange juice. Food Chem., v. 85, p. 41-47, 2004.

Lorenzi, H. 2014. *Arvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil* (6ª Ed. ed.). Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.

Majo, D. D., Giammanco, M., Guardia, M. L., Tripoli, E., Giammanco, S., & Finotti, E. 2005. Flavanones in Citrus fruit: Structure–antioxidant activity relationships. *Food Research International*, 38(10): 1161-1166.

Mathias, J., & Andrade, G. A. 2011. Cambuci: nativa da mata atlântica, a árvore frutífera é também uma planta ornamental, mas está sob risco de extinção [Cambuci: native forest, the fruit tree is also an ornamental plant, but is at risk of extinction]. *Globo Rural*, Vol. 296: Editora Globo S.A.

Nicoli, M. C., Anese, M., & Parpinel, M. 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology*, 10(3): 94-100.

Plaza, L., Sanchez-Moreno, C., Elez-Martinez, P., de Ancos, B., Martin-Belloso, O., & Cano, M. P. 2006. Effect of refrigerated storage on vitamin C and antioxidant activity of orange juice processed by high-pressure or pulsed electric fields with regard to low pasteurization. *European Food Research and Technology*, 223(4): 487-493.

Polydera, A. C., Stoforos, N. G., & Taoukis, P. S. 2003. Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurised and high pressure processed reconstituted orange juice. *Journal of Food Engineering*, 60(1): 21-29.

Rapisarda, P., Bianco, M. L., Pannuzzo, P., & Timpanaro, N. 2008. Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes [Citrus sinensis (L.) Osbeck]. *Postharvest Biology and Technology*, 49(3): 348-354.

Rawson, A., Patras, A., Tiwari, B. K., Noci, F., Koutchma, T., & Brunton, N. 2011. Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. *Food Research International*, 44(7): 1875-1887.

Zafra-Stone, S., Yasmin, T., Bagchi, M., Chatterjee, A., Vinson, J. A., & Bagchi, D. 2007. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51(6): 675-683.

Zulueta, A., Esteve, M. J., & Frigola, A. 2010. Ascorbic acid in orange juice–milk beverage treated by high intensity pulsed electric fields and its stability during storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1): 84-90.

10. Lista das publicações submetidas

- Essential Oil Production from a Brazilian Native Myrtaceae – Cambuci (Campomanesia Phaea)

Essential oil of *Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum (cambuci)

Giovanna Fachini Dellaqua
Master Degree, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo (CENA/USP)
Piracicaba, São Paulo, Brazil
+55(19)997406282
giovanna.dellaqua@usp.br

Marcelo Machado Leão
Doctor and Scientific Researcher, Departamento de Ciências Florestais, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP)
Piracicaba, São Paulo, Brazil
+55(19)99957-8148
marceloleao@usp.br

Marcia Ortiz Mayo Marques
Scientific Researcher PhD, Instituto Agronômico (IAC)
Campinas, São Paulo, Brazil
+55(19)3202-1770
mortiz@iac.sp.gov.br

Roselaine Facanali
Doctor and Scientific Researcher, Instituto Agronômico (IAC)
Campinas, São Paulo, Brazil
+55(19)99148-9663
rosefacanali@ig.com.br

Marta Helena Filet Spoto
Professor PhD, Departamento de Agroindústria, nutrição e alimentos, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP)
Piracicaba, São Paulo, Brazil
+55(19)3429-4155
martaspoto@usp.br

José Otávio Brito
Professor PhD, Departamento de Ciências Florestais, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP)
Piracicaba, São Paulo, Brazil
+55(19)3447-6617
jobrito@usp.br

ABSTRACT

Bioprospecting molecules of native Brazilian flora enable the discovery of active principles that help enterprises to partipate in the competitive market often with limited innovation. This study investigated the chemical composition of the essential oil from leaves of the species Campomanesia phaea (O. Berg.) Landrum (cambuci), from the botanical family Myrtaceae. The cambuci species is an endemic species in Brazil's São Paulo State located in Atlantic Forest biome. The studied sites are located in the Tropical Rain Forest (TRF) in the microregion of Paraibuna-São Paulo/Brazil and in the Seasonal Semideciduous Forest (SSF) in the microregion of Limeira-São Paulo/Brazil, both belonging to the Atlantic Forest biome. We studied the possibility to develop new products with essential oils for industries of food, beverages, pharmaceuticals, and cosmetics. Essential oils were extracted in the pilot plant of steam distillation under controlled conditions of pressure and temperature from fresh and dry leaves of plant materials. The average yield of essential oils from leaves of Campomanesia phaea collected in the microregion of Limeira - SP (SSF) showed higher values compared with those from leaves collected in the microregion Paraibuna - SP (TRF) but no significant difference was found at a significance level of 5%. The chemical composition analysis of the essential oils extracted from Campomanesia phaea proved the presence of 29 chemical substances. The main compounds found were trans-caryophyllene, bicyclogermacrene, trans-β-ocimene, δ-cadinene, trans-nerolidol and linalool. The drying process did modify the composition of essential oils. On the other hand, the same chemical compounds were found in fresh leaves from both locations. The use of Campomanesia phaea (cambuci) species could be a good alternative from a social, economic and environmental perspective, as it potentially may raise employment opportunities and income in the regional communities (including the indigenous ones) allowing a sustainable use of inputs from the Brazilian biodiversity.

Keywords

Campomanesia phaea, cambuci, essential oil, Atlantic Forest biome.

ANEXOS

Anexo A- Fichas de avaliação sensorial

Ficha 1 – Teste de diferença

Nome: _____ **Telefone:** _____

Você está recebendo uma amostra padrão e quatro amostras codificadas. Por favor, prove a amostra Padrão e em seguida prove cada uma das amostras codificadas e avalie, para cada atributo abaixo, o quanto cada amostra codificada difere da amostra padrão.

1= nenhuma diferença do padrão
2
3= ligeiramente
4
5= moderadamente
6
7= muito diferente
8
9= extremamente diferente

	Grau de diferença			
Amostra nº:				
Sabor				
Textura				
Aroma				
Cor				
Impressão global				

Ficha 2 - Teste de aceitação com a utilização da escala hedônica.

Nome: _____ Telefone: _____

1. Você receberá quatro amostras de suco de cambuci para avaliar. Por favor, prove as amostras da esquerda para direita e dê uma nota para cada parâmetro abaixo, seguindo a escala a seguir:

1 = desgostei extremamente
2 = desgostei muito
3 = desgostei
4 = desgostei pouco
5 = não gostei nem desgostei
6 = gostei pouco
7 = gostei
8 = gostei muito
9 = gostei extremamente

	Amostra nº:	**Amostra nº:**	**Amostra nº:**	**Amostra nº:**
Sabor				
Textura				
Aroma				
Cor				
Impressão global				

2. Comentários: por favor, indique o que em particular você mais gostou ou menos gostou neste produto (use palavras ou frases):

Mais gostei:
( )_____
( )_____
( )_____
( )_____

Menos gostei:
( )_____
( )_____
( )_____
( )_____

3. Você compraria esse tipo de produto?

( ) Sim, certamente compraria
( ) Sim, provavelmente compraria
( ) Talvez
( ) Não, provavelmente não compraria
( ) Não, certamente não compraria

4. Qual a sua faixa de idade?

( ) até 18 anos
( ) 18 a 25 anos
( ) acima de 25 a 35 anos
( ) acima de 35 anos

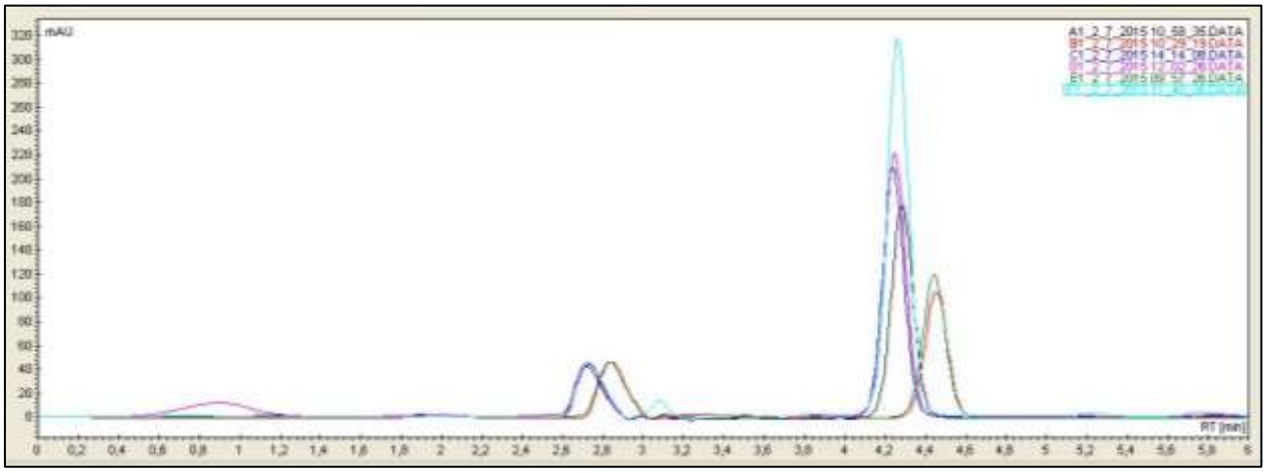
5. Indique alguma característica que você achou diferente nesse produto.

_____
_____
_____
_____
_____

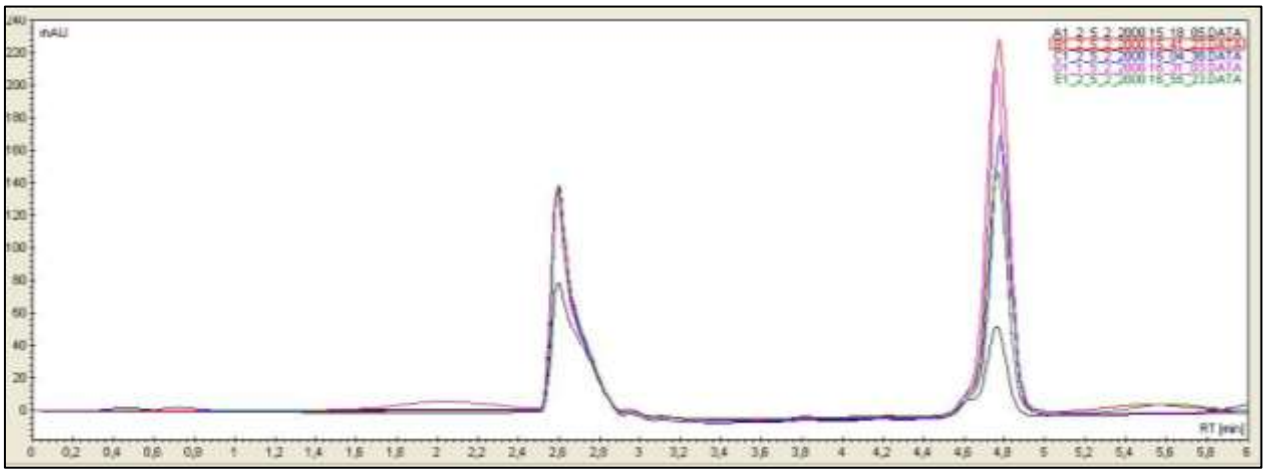
Muito obrigada por participar de nossa pesquisa.

Anexo B – Cromatogramas do ácido L-ascórbico dos diferentes tratamentos agroindustriais aos quais a polpa de fruto do cambucizeiro foram submetidas. Os cromatogramas foram apresentados por período de armazenamento. A= polpa pasteurizada congelada, B= polpa pasteurizada refrigerada, C= polpa congelada integral, D= polpa congelada sem casca, E= polpa refrigerada, F= polpa liofilizada.

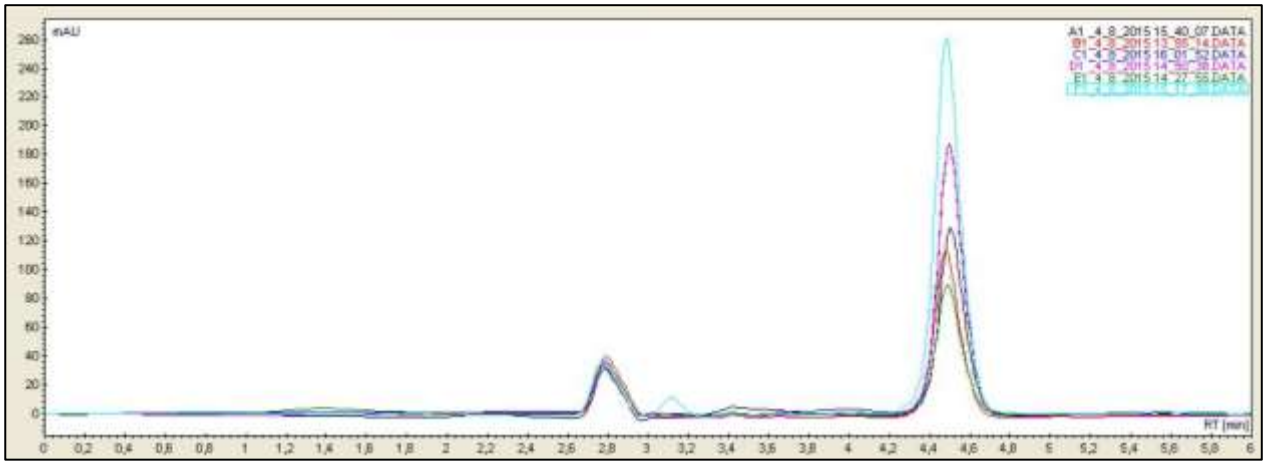
1º período:



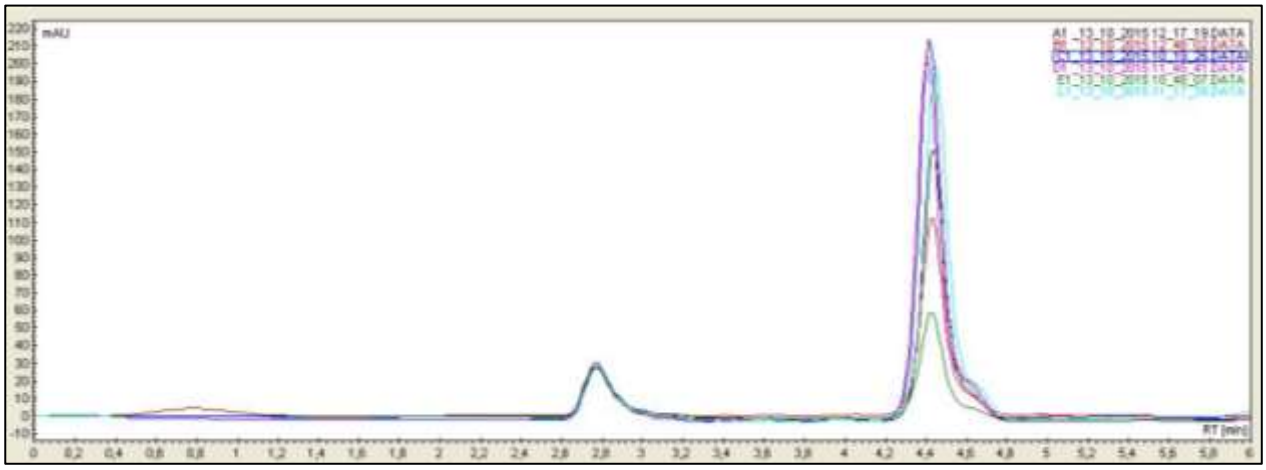
2º período



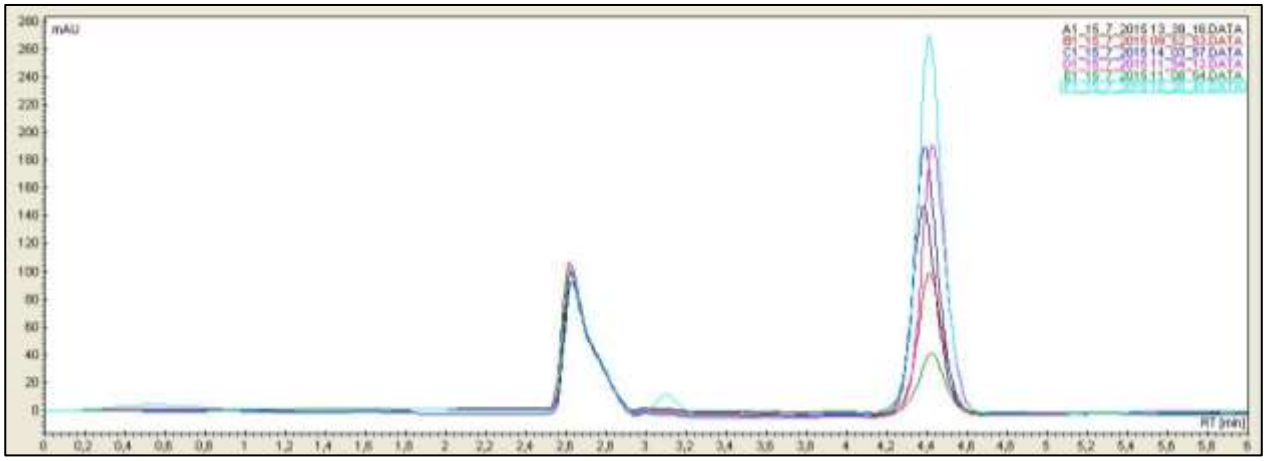
3º período



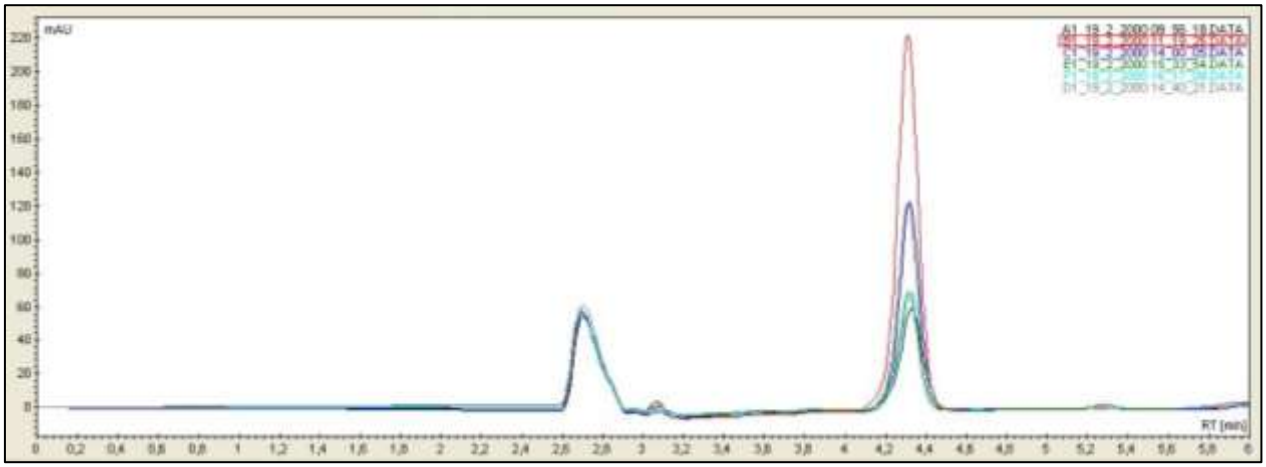
4º período



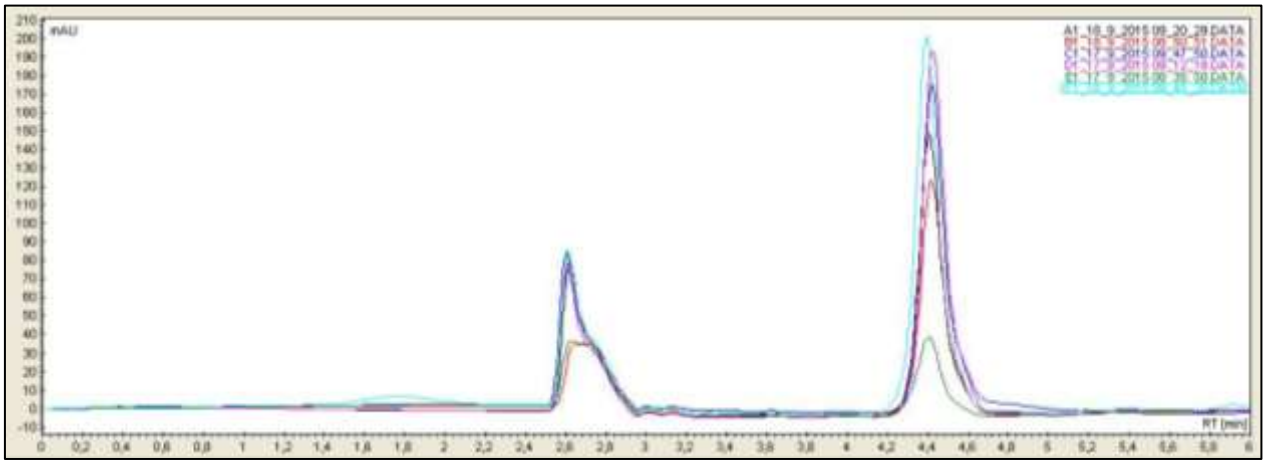
5º período



6º período

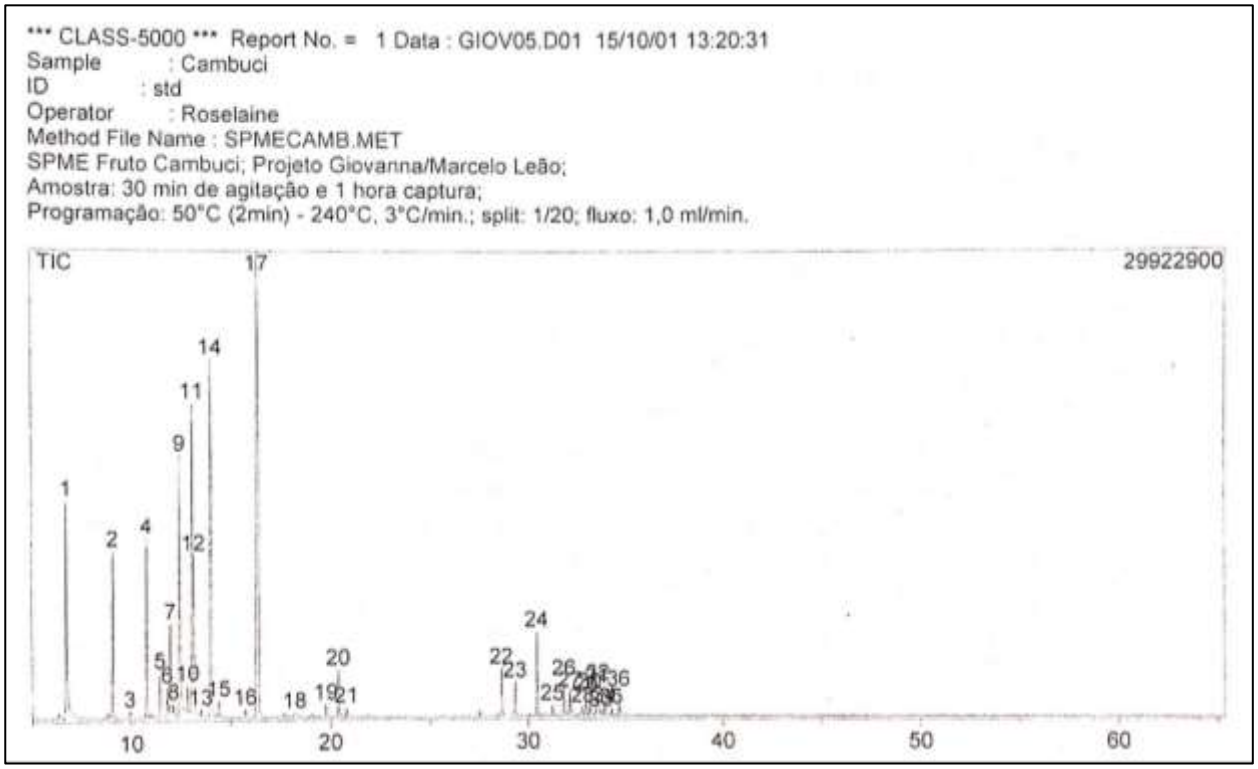


7º período

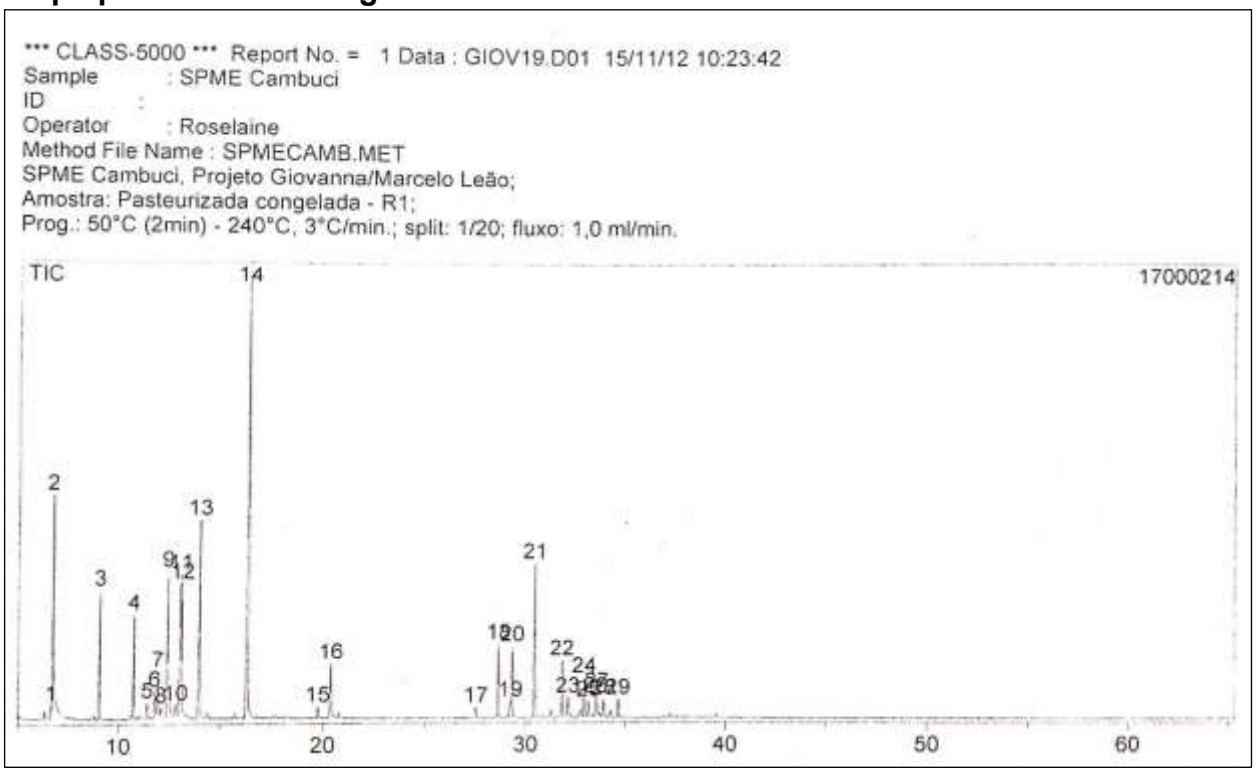


Anexo C – Cromatogramas obtidos durante a avaliação da polpa e do fruto de *C. phaea*, em planta piloto

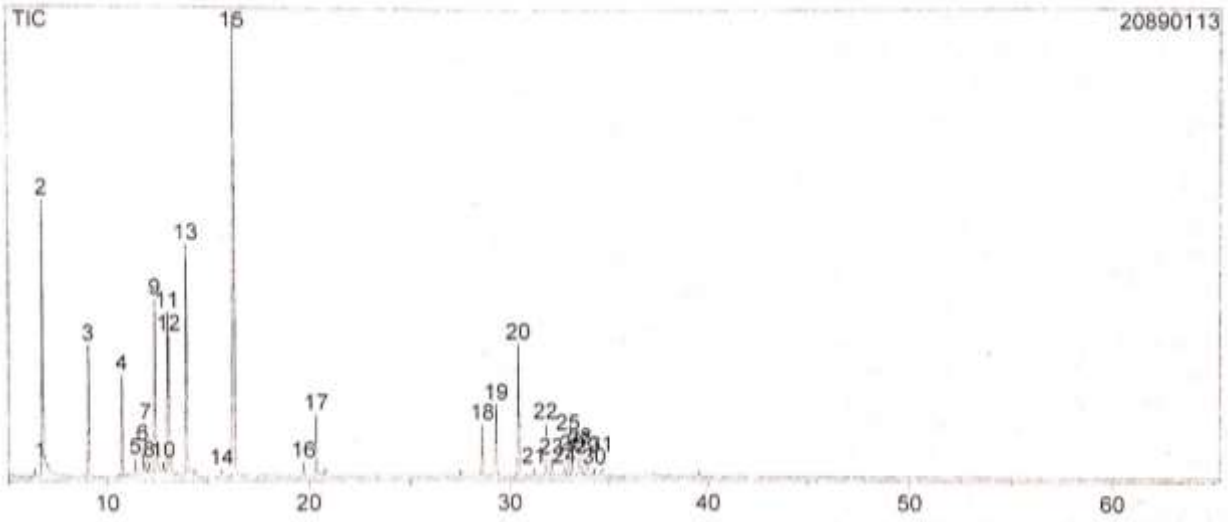
Fruto do cambucizeiro



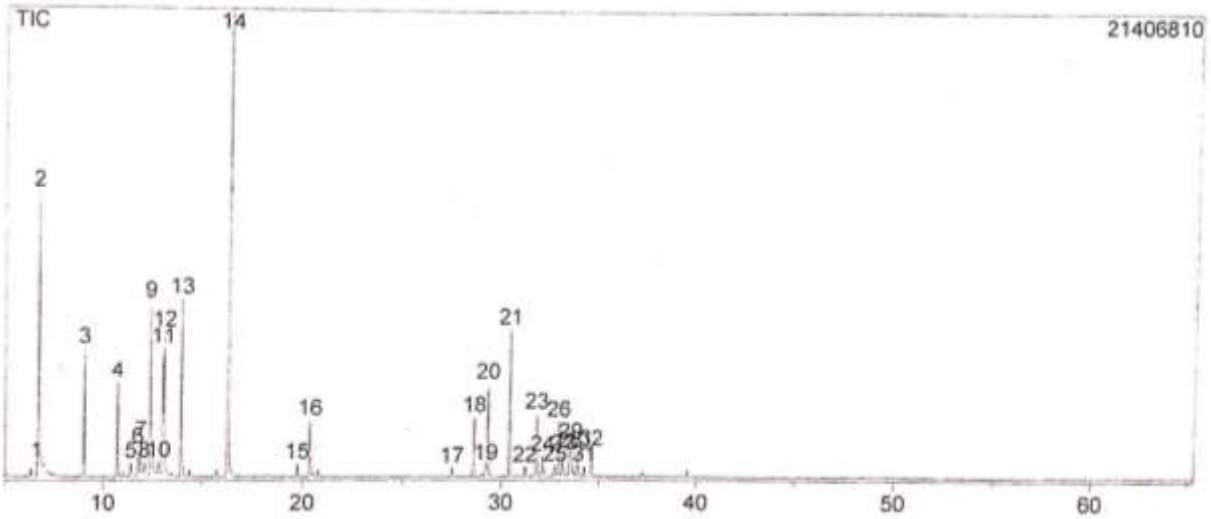
Polpa pasteurizada congelada



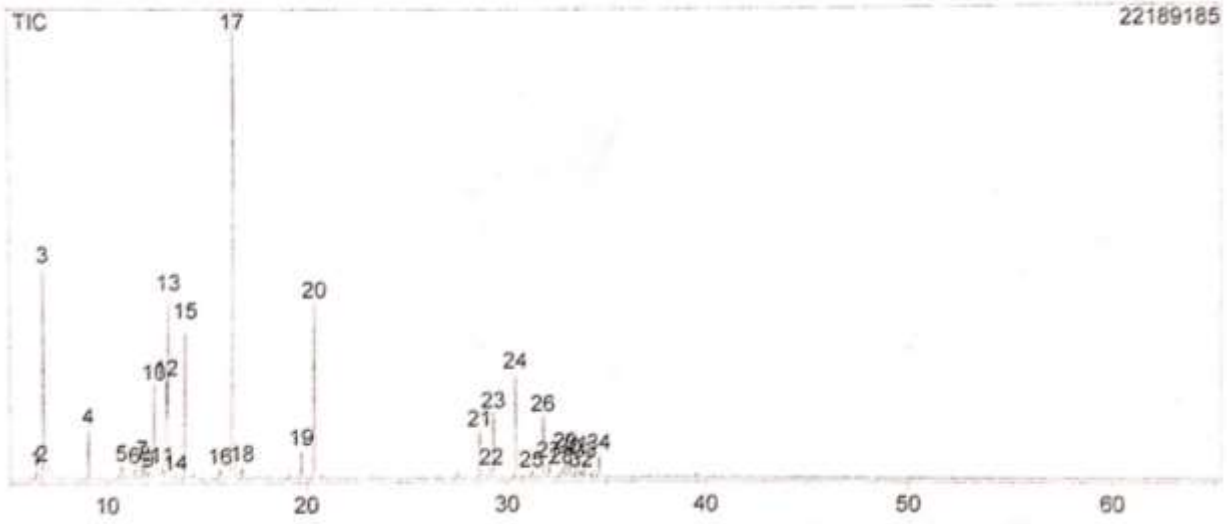
*** CLASS-5000 *** Report No. = 1 Data : GIOV20.D01 15/11/12 12:01:04
Sample : SPME Cambuci
ID :
Operator : Roselaine
Method File Name : SPMECAMB.MET
SPME Cambuci, Projeto Giovanna/Marcelo Leão;
Amostra: Pasteurizada congelada - R2;
Prog.: 50°C (2min) - 240°C, 3°C/min.; split: 1/20; fluxo: 1,0 ml/min.



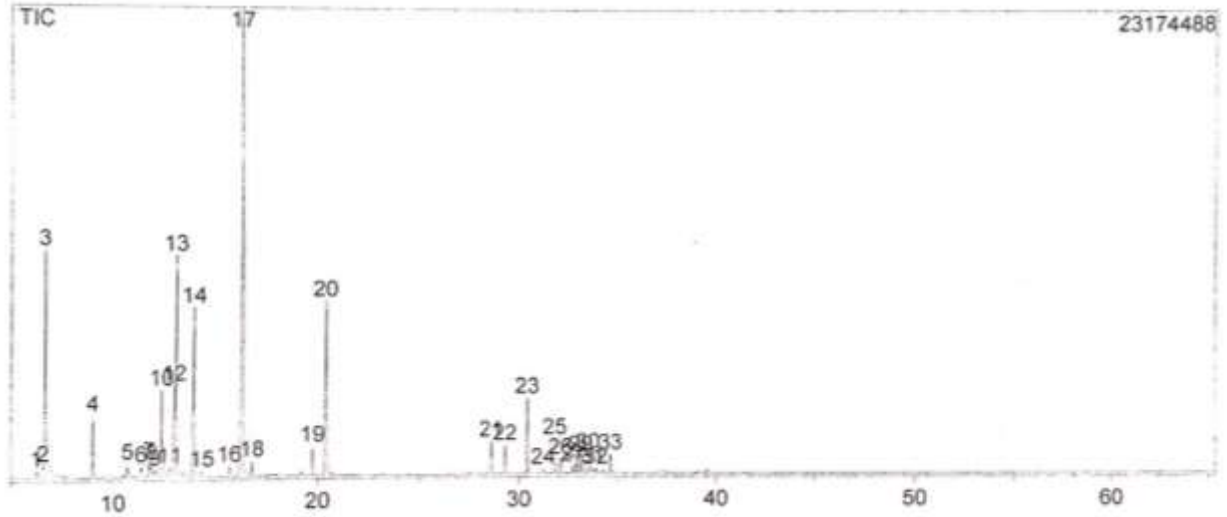
*** CLASS-5000 *** Report No. = 1 Data : GIOV21.D01 15/11/12 13:41:05
Sample : SPME Cambuci
ID :
Operator : Roselaine
Method File Name : SPMECAMB.MET
SPME Cambuci, Projeto Giovanna/Marcelo Leão;
Amostra: Pasteurizada congelada - R3;
Prog.: 50°C (2min) - 240°C, 3°C/min.; split: 1/20; fluxo: 1,0 ml/min.

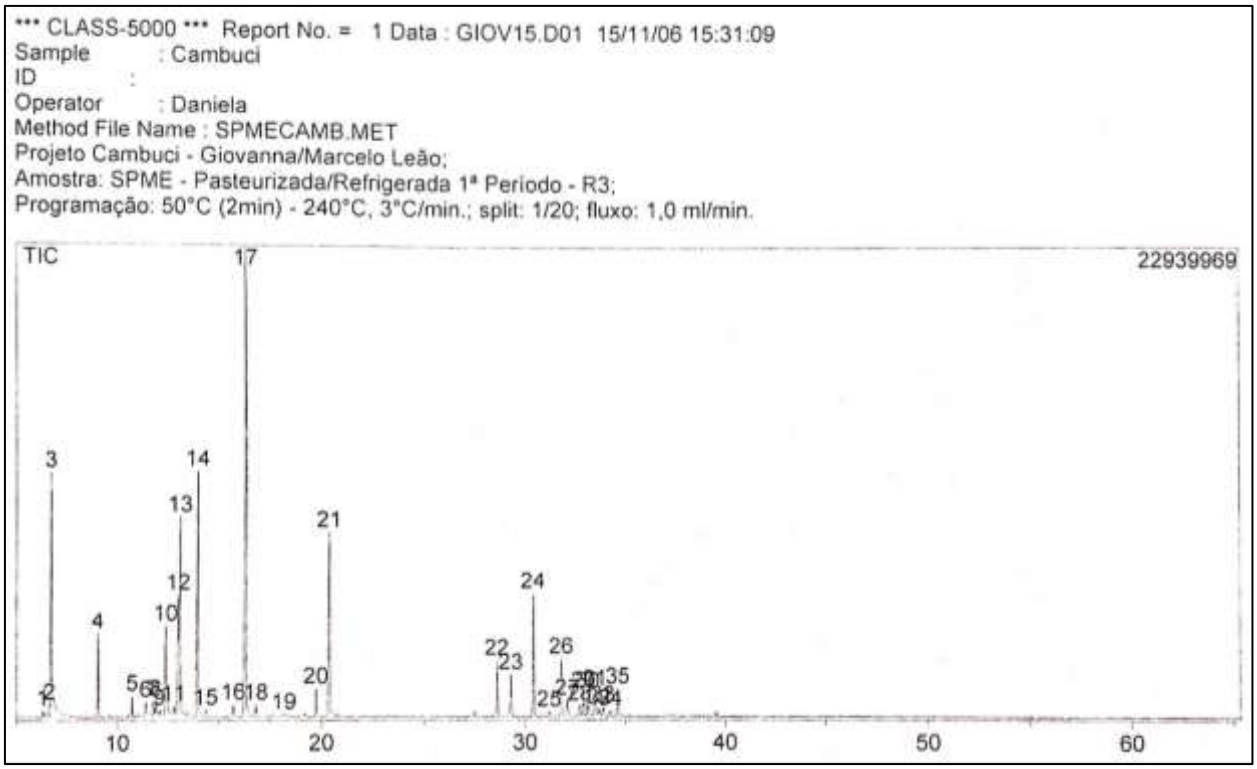


*** CLASS-5000 *** Report No. = 1 Data : GIOV13.D01 15/11/06 12:16:02
Sample : Cambuci
ID :
Operator : Daniela
Method File Name : SPMECAMB.MET
Projeto Cambuci - Giovanna/Marcelo Leão;
Amostra: SPME - Pasteurizada/Refrigerada 1ª Período - R1;
Programação: 50°C (2min) - 240°C, 3°C/min.; split: 1/20; fluxo: 1,0 ml/min.

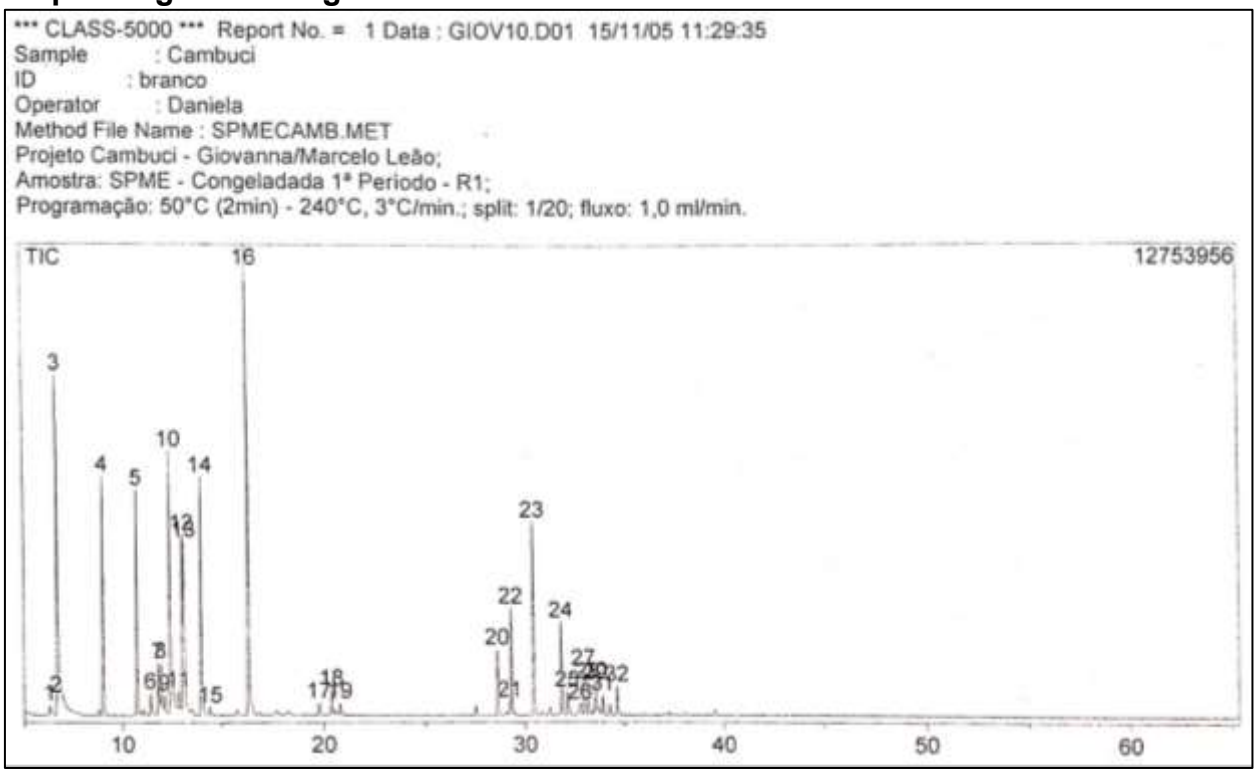


*** CLASS-5000 *** Report No. = 1 Data : GIOV14.D01 15/11/06 13:55:43
Sample : Cambuci
ID :
Operator : Daniela
Method File Name : SPMECAMB.MET
Projeto Cambuci - Giovanna/Marcelo Leão;
Amostra: SPME - Pasteurizada/Refrigerada 1ª Período - R2;
Programação: 50°C (2min) - 240°C, 3°C/min.; split: 1/20; fluxo: 1,0 ml/min.

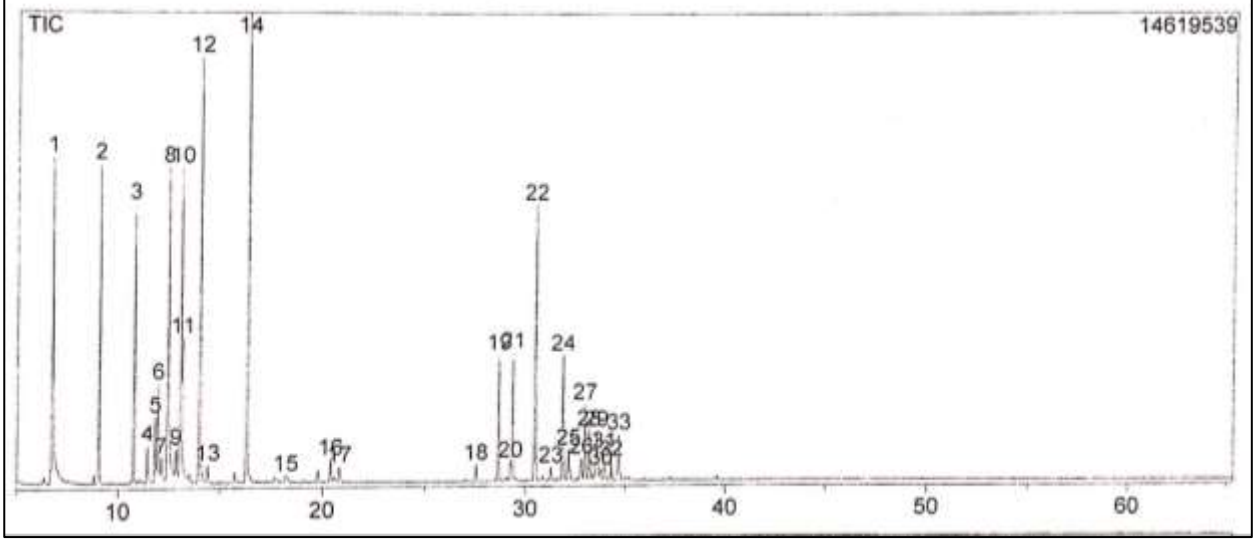




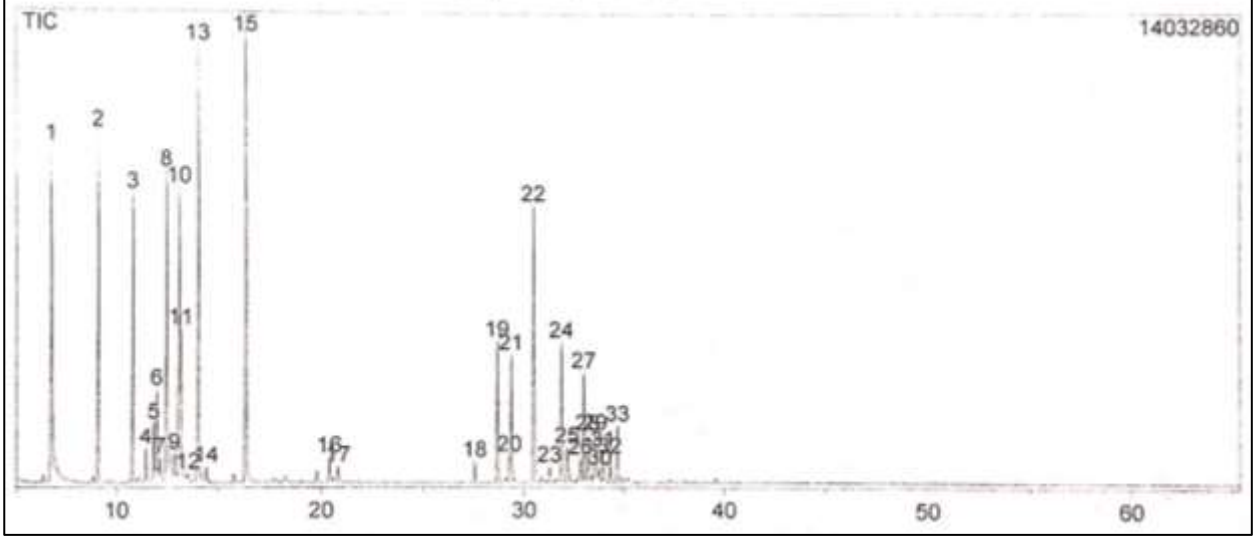
Polpa congelada integral



*** CLASS-5000 *** Report No. = 1 Data : GIOV11.D01 15/11/05 13:13:23
Sample : Cambuci
ID : branco
Operator : Daniela
Method File Name : SPMECAMB.MET
Projeto Cambuci - Giovanna/Marcelo Leão;
Amostra: SPME - Congeladada 1ª Período - R2;
Programação: 50°C (2min) - 240°C, 3°C/min.; split: 1/20; fluxo: 1,0 ml/min.

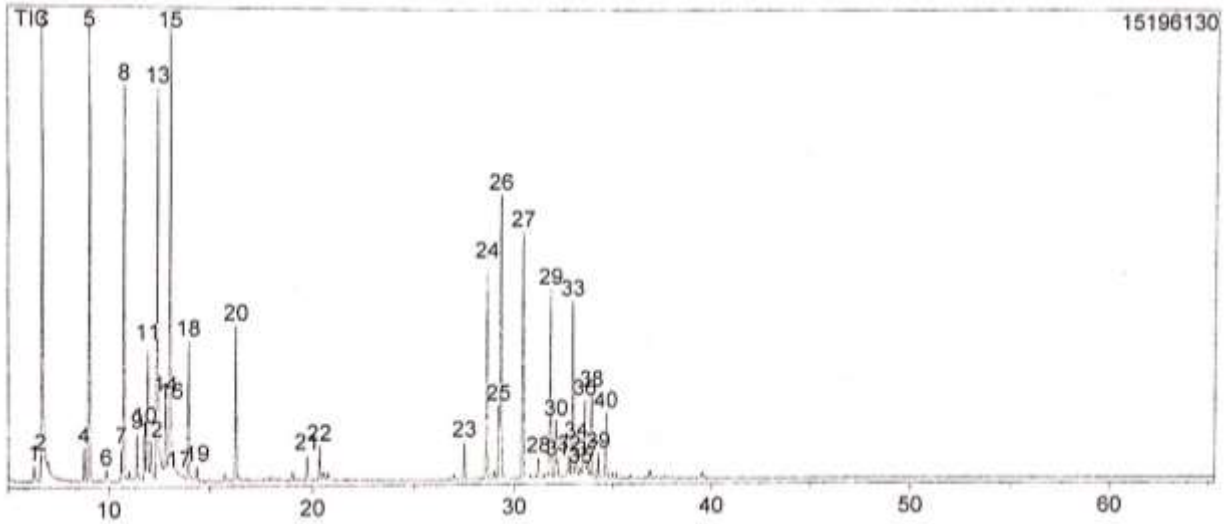


*** CLASS-5000 *** Report No. = 1 Data : GIOV12.D01 15/11/05 14:57:59
Sample : Cambuci
ID : branco
Operator : Daniela
Method File Name : SPMECAMB.MET
Projeto Cambuci - Giovanna/Marcelo Leão;
Amostra: SPME - Congeladada 1ª Período - R3;
Programação: 50°C (2min) - 240°C, 3°C/min.; split: 1/20; fluxo: 1,0 ml/min.

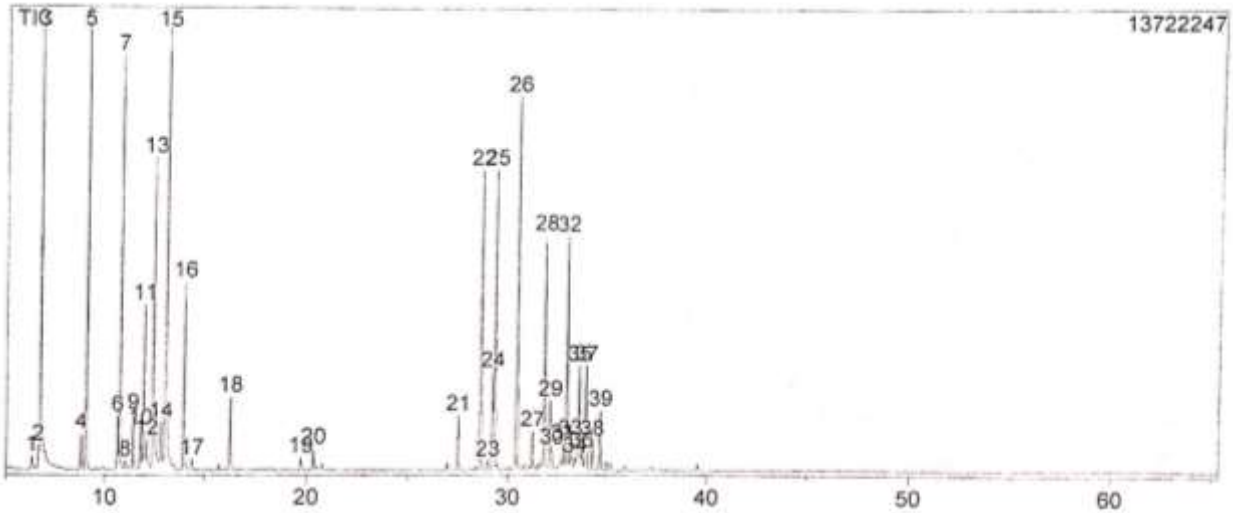


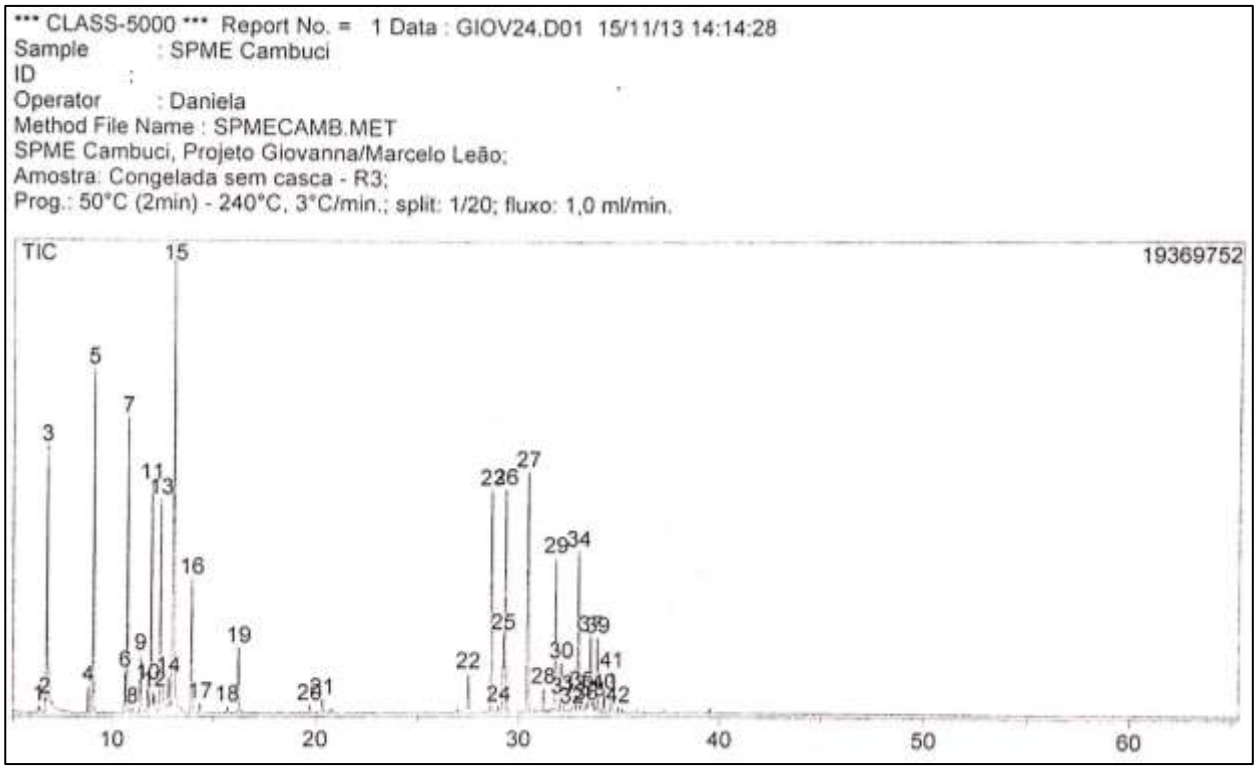
Polpa congelada sem casca

*** CLASS-5000 *** Report No. = 1 Data : GIOV22.D01 15/11/13 10:48:53
Sample : SPME Cambuci
ID :
Operator : Daniela
Method File Name : SPMECAMB.MET
SPME Cambuci, Projeto Giovanna/Marcelo Leão;
Amostra: Congelada sem casca - R1;
Prog.: 50°C (2min) - 240°C, 3°C/min.; split: 1/20; fluxo: 1,0 ml/min.

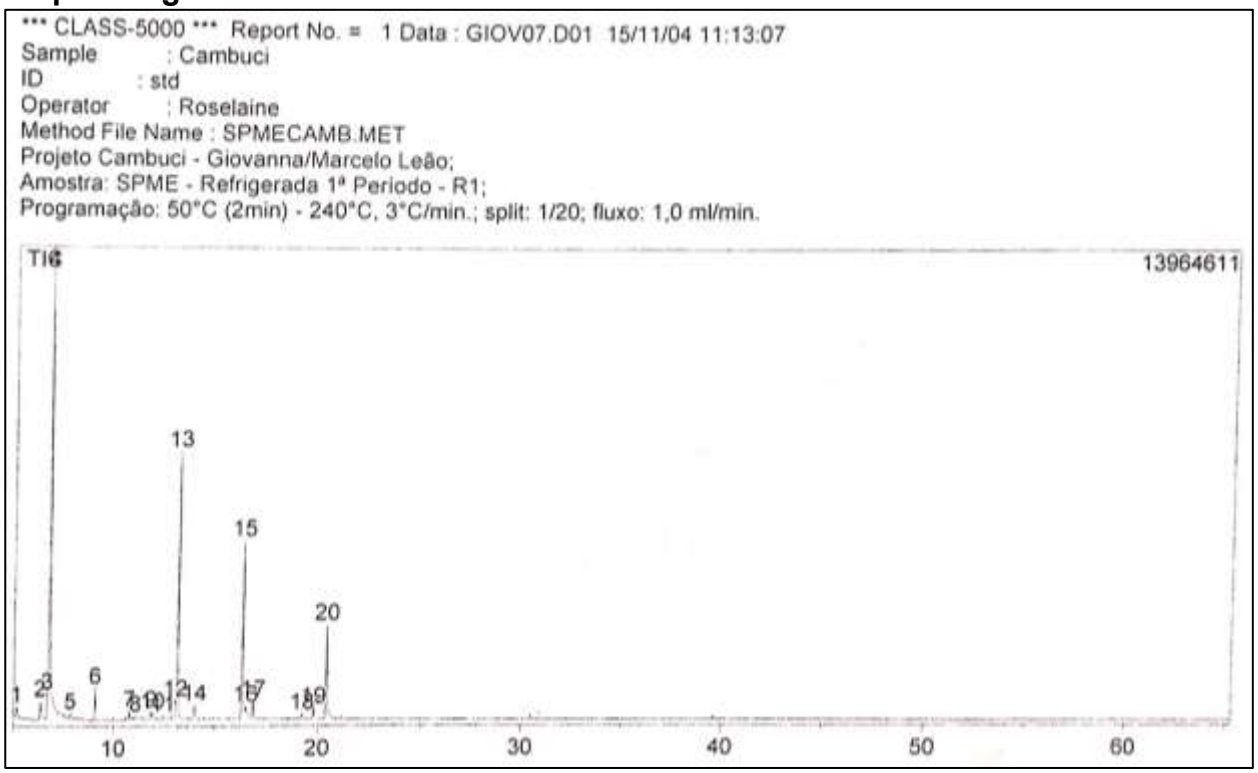


*** CLASS-5000 *** Report No. = 1 Data : GIOV23.D01 15/11/13 12:36:55
Sample : SPME Cambuci
ID :
Operator : Daniela
Method File Name : SPMECAMB.MET
SPME Cambuci, Projeto Giovanna/Marcelo Leão;
Amostra: Congelada sem casca - R2;
Prog.: 50°C (2min) - 240°C, 3°C/min.; split: 1/20; fluxo: 1,0 ml/min.

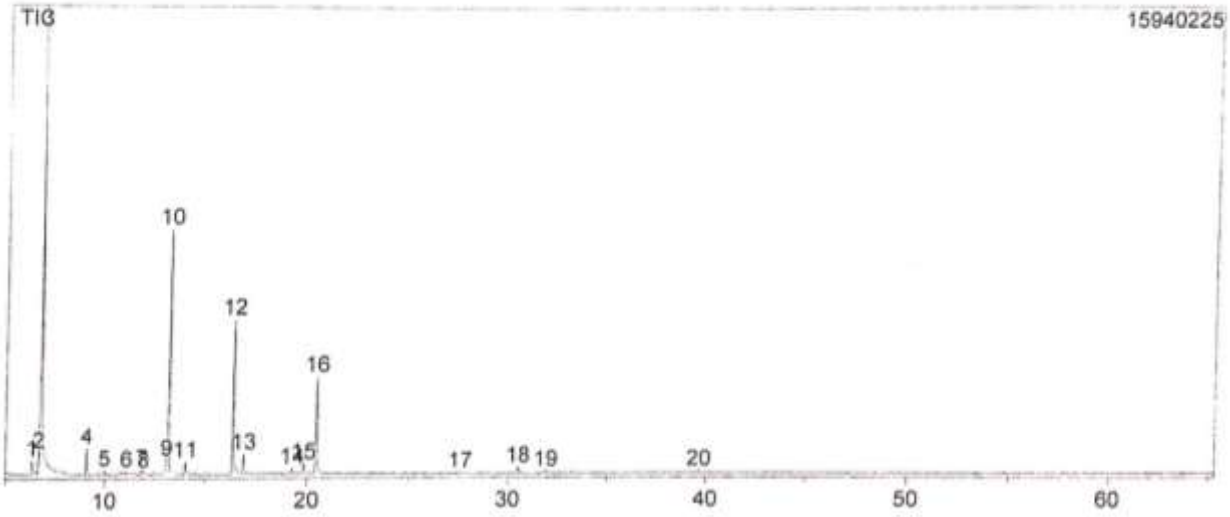




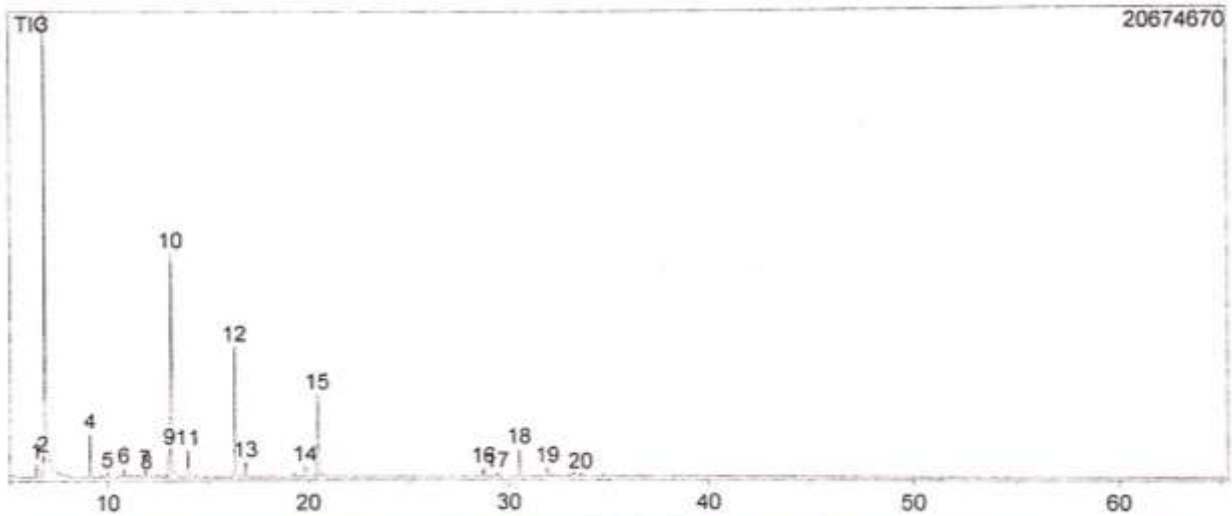
Polpa refrigerada



*** CLASS-5000 *** Report No. = 1 Data : GIOV08.D01 15/11/04 12:53:39
Sample : Cambuci
ID : std
Operator : Roselaine
Method File Name : SPMECAMB.MET
Projeto Cambuci - Giovanna/Marcelo Leão;
Amostra: SPME - Refrigerada 1ª Período - R2;
Programação: 50°C (2min) - 240°C, 3°C/min.; split: 1/20; fluxo: 1,0 ml/min.

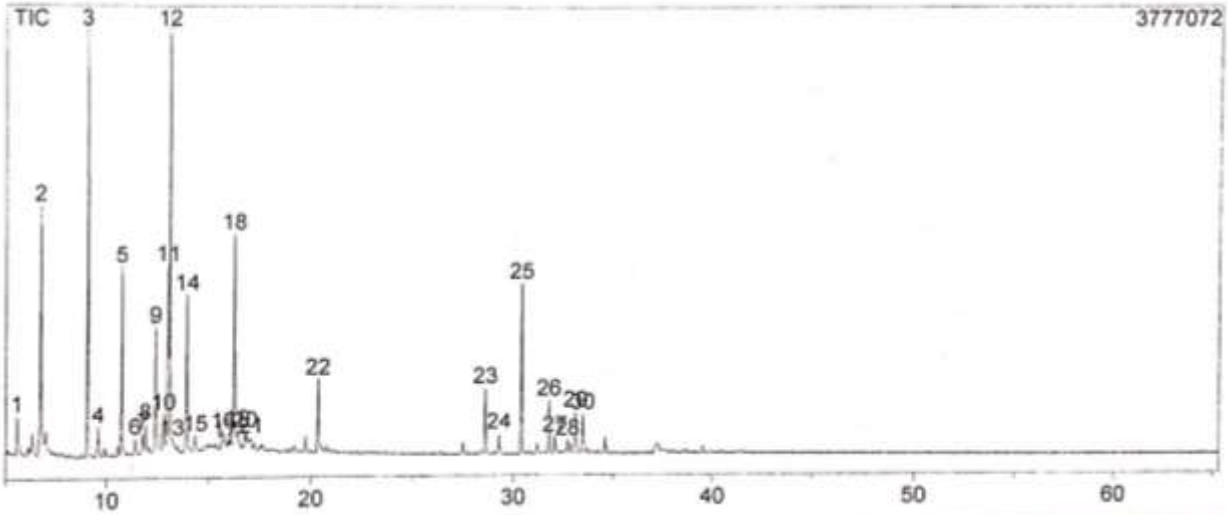


*** CLASS-5000 *** Report No. = 1 Data : GIOV09.D01 15/11/04 14:31:27
Sample : Cambuci
ID : std
Operator : Roselaine
Method File Name : SPMECAMB.MET
Projeto Cambuci - Giovanna/Marcelo Leão;
Amostra: SPME - Refrigerada 1ª Período - R3;
Programação: 50°C (2min) - 240°C, 3°C/min.; split: 1/20; fluxo: 1,0 ml/min.

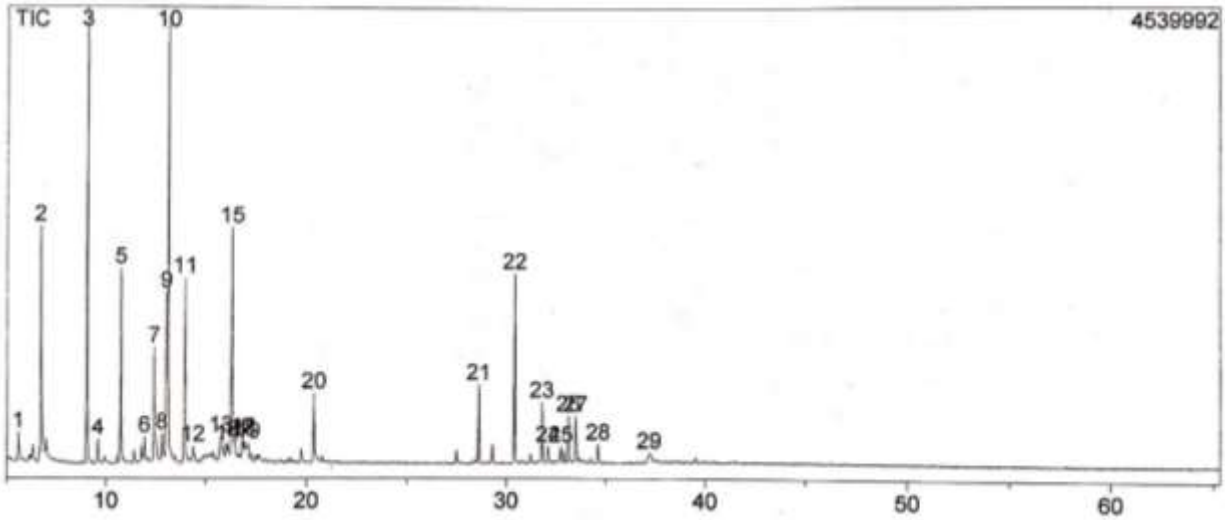
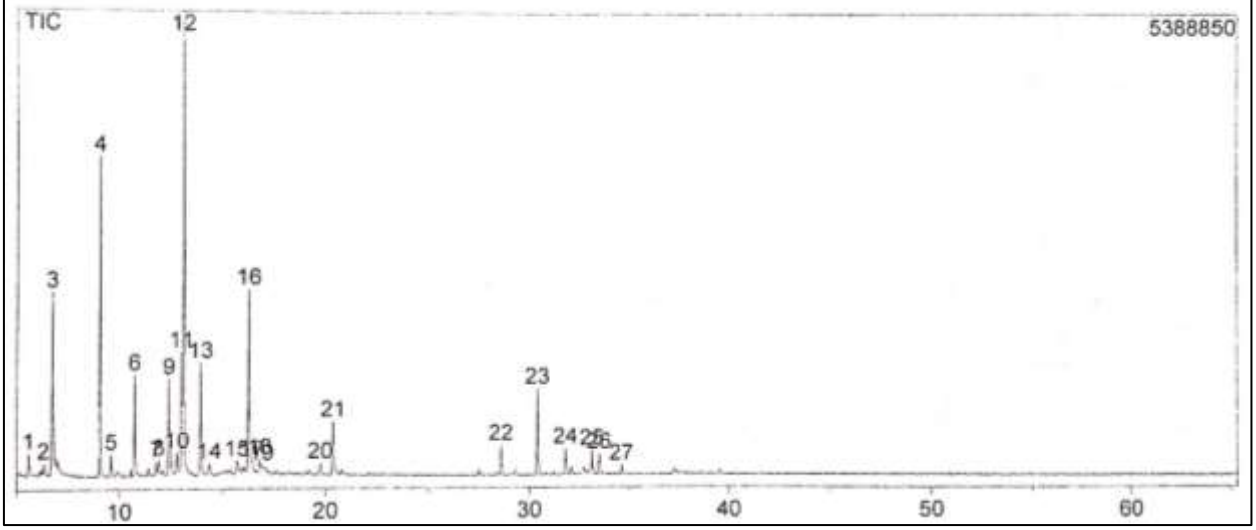


Polpa liofilizada

*** CLASS-5000 *** Report No. = 1 Data : GIOV16.D01 15/11/11 10:59:47
Sample : SPME Cambuci
ID :
Operator : Roselaine
Method File Name : SPMECAMB.MET
SPME Cambuci; Projeto Giovanna/Marcelo Leão;
Amostra: liofilizada - R1; 30 min de agitação e 1h de captura;
Prog: 50°C (5min) - 240°C, 3°C/min.; split: 1/20; fluxo: 1,0 ml/min.



*** CLASS-5000 *** Report No. = 1 Data : GIOV17.D01 15/11/11 13:26:52
Sample : SPME Cambuci
ID :
Operator : Roselaine
Method File Name : SPMECAMB.MET
SPME Cambuci; Projeto Giovanna/Marcelo Leão;
Amostra: liofilizada - R2; 30 min de agitação e 1h de captura;
Prog: 50°C (5min) - 240°C, 3°C/min.; split: 1/20; fluxo: 1,0 ml/min.



*** CLASS-5000 *** Report No. = 1 Data : GIOV18.D01 15/11/11 15:02:24
Sample : SPME Cambuci
ID :
Operator : Roselaine
Method File Name : SPMECAMB.MET
SPME Cambuci; Projeto Giovanna/Marcelo Leão;
Amostra: liofilizada - R3; 30 min de agitação e 1h de captura;
Prog: 50°C (5min) - 240°C, 3°C/min.; split: 1/20; fluxo: 1,0 ml/min.