



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA**

**LUCIANA MARIA HERCULANO DA SILVA**

**ESTUDO DO PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DE ACEROLAS PARA  
QUANTIFICAÇÃO E MONITORAMENTO DA VITAMINA C**

**FORTALEZA**

**2020**

LUCIANA MARIA HERCULANO DA SILVA

ESTUDO DO PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DE ACEROLAS PARA  
QUANTIFICAÇÃO E MONITORAMENTO DA VITAMINA C

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Fisiologia, Bioquímica e Biotecnologia Vegetal.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dra. Maria Raquel Alcântara de Miranda.

Coorientador: Dr. Ebenézer de Oliveira Silva.

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S581e Silva, Luciana Maria Herculano da.  
Estudo do processamento e armazenamento de acerolas para quantificação e monitoramento da vitamina C / Luciana Maria Herculano da Silva. – 2020.  
53 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2020.

Orientação: Profa. Dra. Maria Raquel Alcântara de Miranda.

Coorientação: Profa. Dra. Ebenézer de Oliveira Silva.

1. Malpighia emarginata D.C. 2. NIR. 3. Estádio de maturação. 4. Ácido ascórbico. I. Título.

CDD 630

---

LUCIANA MARIA HERCULANO DA SILVA

ESTUDO DO PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DE ACEROLAS PARA  
QUANTIFICAR E MONITOR A VITAMINA C

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Fisiologia, Bioquímica e Biotecnologia Vegetal.

Aprovada em: 30/09/2020.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>ª</sup> Dra. Maria Raquel Alcântara de Miranda (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Ebenézer de Oliveira Silva (Coorientador)  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Agroindústria Tropical)

---

Prof<sup>ª</sup> Dra. Livia Paulia Dias Ribeiro  
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

---

Prof. Dr. Elenilson, de Godoy Alves Filho  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Ms. Ana Talita Adeodato Carvalho Pontes  
Empresa Amway do Brasil LDTA

A Deus.  
Aos meus pais Ramiro Augusto e Severina  
Maria, e ao meu irmão Junior por serem meus  
apoios em todos os momentos da minha vida.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de desenvolvimento científico e tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro na manutenção da bolsa.

Ao diretor da empresa Nuteral Indústria de Formulações Nutricionais Ltda Dr. Augusto Guimarães, ter permitido o desenvolvimento dos meus estudos e disponibilizando a infraestrutura do laboratório, como também o equipamento FT-NIR que permitiram a concretização da minha pesquisa.

A empresa Nutrilite: Produtos para Nutrição/Amway do Brasil® e sua pesquisadora Msc Talita Adeodato por ter cedido as amostras para desenvolvimento da minha pesquisa.

A minha orientadora a Profa. Dra. Maria Raquel Alcântara de Miranda, pelo exemplo de profissional e por toda a contribuição ao meu crescimento profissional e pessoal.

Aos membros da banca, Dr. Ebenézer de Oliveira Silva da Embrapa Agroindústria Tropical por toda ajuda no desenvolvimento da pesquisa, paciência e atenção; Profa. Dra. Livia Paulia Dias Ribeiro (UNILAB) pela orientação, apoio e ensinamentos; Ao Dr. Elenilson de Godoy Alves Filho (UFC) pelas contribuições para a pesquisa.

A todos os membros da minha família pelo carinho e incentivo.

Aos amigos João Alves, Andreza Raquel, Wendson Moraes, Jéssica Moraes, Marilena, Cristiane, Darlene, Diene, Moacília, Jennifer, Linda, Daniel, Adriano, Luan Ribeiro, Pedro Kennedy, Renato, Lucas e Douglas.

Aos amigos e colegas Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Pós-colheita de Frutos – LABFRUTOS pelo apoio, João Alves, Bianca Carvalho, Aristides Gomes, João Lucas, Camila, Luana, Rute, Luís, Débora e aos que deixaram saudades Jadilson, Amanda, Alex, Lorena e Mônica. Vocês foram meu apoio em muitos momentos.

Obrigada a TODOS!

## RESUMO

A vitamina C é importante para manutenção do organismo humano por participar de inúmeros processos metabólicos e não ser sintetizada por primatas, é obtida pela alimentação, além de ser utilizada no enriquecimento de fármacos e cosméticos. A acerola *in natura* ou processada é utilizada como uma fonte de vitamina C, devido à sua grande concentração. O Experimento 1: Monitoramento da extração de vitamina C empregando modelos de calibração multivariados por espectroscopia NIR teve como objetivo de desenvolver uma metodologia de monitoramento das diferentes etapas do processamento do extrato de vitamina C, usando a metodologia de espectroscopia do infravermelho próximo (NIR). Os extratos das etapas do processamento: extrato antes do tratamento enzimático com pectina metil esterase (EAE); extrato após o tratamento enzimático com PME por 30 min (EPE); extrato após tratamento com adição de hidróxido de cálcio ( $\text{CaOH}_2$ ) por 60 min (EAH); extrato após decantação por 3 h e 30 min (DEC); extrato obtido durante a ultrafiltração por 20 h (EUF); extrato após ultrafiltração (EPF); e extrato concentrado após evaporação (EBACH). Foram coletados dados espectrais de absorção por espectroscopia no infravermelho próximo de 800 nm a 2.500 nm, com 32 varreduras e resolução de  $4 \text{ cm}^{-1}$  de resolução e correlacionados com análise de referência por espectrofotometria a 525 nm para determinação do conteúdo de vitamina C e obtivemos os modelos de calibração e validação foram obtidos por regressão por quadrados mínimos parciais. O conteúdo de vitamina C variou de 1.188,39 a 9.959,74  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ , durante todo processamento. O erro de previsão RMSEP 166,27  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  de extrato, de calibração RMCV 451,79  $\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  de extrato e  $R^2$  com valor de 97%, os resultados favorecem o uso de espectroscopia NIR, possibilitando o acompanhamento do conteúdo de vitamina C na linha de produção do extrato concentrado. No experimento 2: Monitoramento do conteúdo de vitamina C em acerolas ‘Apodi’ imaturas sob diferentes condições de armazenamento, teve como objetivo de avaliar frutos imaturos de acerola da variedade ‘Apodi’ ou BRS 235 sob diferentes condições de armazenamento. Os frutos colhidos no estágio P5 foram submetidos à três tratamentos: frutos refrigerados a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  (FR), embalados e refrigerados a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  (FER) e embalados e congelados a  $-18 \text{ }^\circ\text{C}$  (FEC). Foram realizadas avaliações quanto ao conteúdo de sólidos solúveis e vitamina C total, reduzida e oxidada logo após a colheita e diariamente durante o armazenamento por 15 dias, no entanto os frutos do tratamento FEC continuaram armazenados na mesma condição por 90 dias. Após 15 dias de armazenamento, o conteúdo de sólidos solúveis dos tratamentos FER, FEC não tiveram diferença significativa e o tratamento FR teve aumento de 3,54%, enquanto a vitamina C os

tratamentos tiveram redução de FR de 75,20%, FER de 44,25% e FEC de 20,63%. Enquanto após 90 dias, o conteúdo de sólidos solúveis do tratamento FEC de 6,40 °Brix e redução de 17,35% de vitamina C, sendo esse considerado adequado para preservação do conteúdo de vitamina C e de sólidos solúveis de acerola ‘Apodi’.

**Palavras-chave:** *Malpighia emarginata* D.C.; estágio de maturação; NIR; ácido ascórbico.



## ABSTRACT

Vitamin C is important for the maintenance of the human body as it participates in numerous metabolic processes and is not synthesized in primates, it is obtained through food, in addition to being used in the enrichment of drugs and cosmetics. Acerola in natura or processed is used as a source of vitamin C, due to its high concentration. Experiment 1: Monitoring the extraction of vitamin C using multivariate calibration models by NIR spectroscopy aimed to develop a methodology for monitoring the different stages of the processing of vitamin C extract, using the methodology of near infrared spectroscopy (NIR). Extracts from the processing steps: extract before enzymatic treatment with pectin methyl esterase (EAE); extract after enzymatic treatment with PME for 30 min (EPE); extract after treatment with addition of calcium hydroxide (CaOH<sub>2</sub>) for 60 min (EAH); extract after decanting for 3 h and 30 min (DEC); extract obtained during ultrafiltration for 20 h (EUF); extract after ultrafiltration (EPF); and concentrated extract after evaporation (EBACH). Absorption spectral data were collected by near infrared spectroscopy from 800 nm to 2,500 nm, with 32 scanners and 4 cm<sup>-1</sup> resolution and correlated with reference analysis by spectrophotometry at 525 nm to determine the vitamin C content and we obtained the calibration and validation models were obtained by partial least squares regression. The vitamin C content ranged from 1,188.39 to 9,959.74 mg.100 g<sup>-1</sup>, during all processing. The forecast error RMSEP 166.27 mg 100 g<sup>-1</sup> extract, calibration RMCV 451.79 mg 100 g<sup>-1</sup> extract and R<sup>2</sup> with a value of 97%, the results favor the use of NIR spectroscopy, enabling the monitoring of the vitamin C content in the concentrated extract production line. In experiment 2: Monitoring of vitamin C content in immature 'Apodi' acerola under different storage conditions, aimed to evaluate immature acerola fruit of the variety 'Apodi' or BRS 235 under different storage conditions. Fruits harvested at the P5 stage were subjected to three treatments: fruits refrigerated at 4 °C (FR), packaged and refrigerated at 4 °C (FER) and packaged and frozen at -18 °C (FEC). Evaluations were carried out for the content of soluble solids and total, reduced and oxidized vitamin C soon after harvest and daily during storage for 15 days, however the FEC treatment fruits continued to be stored in the same condition for 90 days. After 15 days of storage, the soluble solids content of the FER and FEC treatments had no significant difference and the FR treatment had an increase of 3.54%, while the vitamin C treatments had a 75.20% RF reduction, FER of 44.25% and FEC of 20.63%. While after 90 days, the soluble solids content of the FEC treatment was 6.40 °Brix and a 17.35% reduction in vitamin C, which is considered adequate for preserving the vitamin C and soluble solids content of 'Apodi' acerola.

**Keywords:** *Malpighia emarginata* D.C.; stage of maturation; NIR; ascorbic acid.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo fenológico de acerolas da variedade BRS 235 – Apodi desde o início do desenvolvimento (P1) até a maturação (P7) .....	22
Figura 2 - Reação de oxidação do ácido ascórbico (AA) a ácido desidroascórbico (DHA) e de hidrólise deste último ao ácido 2,3-ácido dicetogulônico (DCG) .....	25
Figura 3 - Dados espectrais obtidos durante o processamento de acerola para extração de vitamina C. Etapas de processamento: antes do tratamento enzimático (EAE); após o tratamento enzimático (EPE); após tratamento com CaOH <sub>2</sub> (EAH); após decantação (DEC); durante a ultrafiltração (EUF); após ultrafiltração (EPF) e extrato concentrado (EBATCH) .....	33
Figura 4 - Gráfico dos escores da análise de componentes principais com dados espectrais com pré-tratamento por transformação padrão normal de variação (SNV) .....	36
Figura 5 - Gráfico de Previsão x Referência da validação interna total (n =29), com as amostras das etapas EAE, DEC, EBATCH e soluções diluídas da EBATCH (C0-C5) .....	38
Figura 6 - Conteúdo de sólidos solúveis (SS) das acerolas ‘Apodi’ verdes armazenadas embaladas e congeladas a -18° C (FEC) por 90 dias .....	42
Figura 7 - Conteúdo de vitamina C total, reduzida e oxidada das acerolas armazenadas por 15 dias sob refrigeração (FR, A), embaladas sob refrigeração (FER, B) e embaladas e congeladas (FEC, C). As variáveis seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1% .....	45
Figura 8 - Conteúdo de vitamina C total, reduzida e oxidada de acerolas ‘Apodi’ armazenadas por 90 dias embaladas e congelados a -18 °C (FEC). As variáveis seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1% .....	46

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química da acerola madura .....	24
Tabela 2 - Determinação de vitamina C durante a preparação do extrato concentrado à base de acerola .....	32
Tabela 3 - Designação química de bandas de absorção na região NIR .....	34
Tabela 4 - Desempenho dos modelos de regressão multivariada por PLS para determinação de vitamina C usando espectros do NIR .....	37
Tabela 5 - Desempenho do modelo de regressão multivariada por PLS para previsão de vitamina C usando espectros do NIR .....	38
Tabela 6 - Previsão do conteúdo de vitamina C de amostras externas ao modelo de calibração, com erro relativo entre 0,78% a 3,18% .....	39
Tabela 7 - Conteúdo de sólidos solúveis (SS) das acerolas ‘Apodi’ verdes armazenadas por 15 dias sob refrigeração (FR), embaladas sob refrigeração (FER) e embaladas e congeladas (FEC) .....	41

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACP	Análise de Componentes Principais
AA	Ácido ascórbico
ATP	Adenosina trifosfato
CE	Ceará
CV	Coefficiente de variação
DCG	Ácido 2,3-ácido dicetogulônico
DEC	Extrato após decantação por 3 h e 30 min
DHA	Ácido dehidroascórbico
DTT	Ditiotreitol
EAE	Antes do tratamento enzimático com pectina metil esterase
EAH	Extrato após tratamento com adição de hidróxido de cálcio (CaOH <sub>2</sub> ) por 60 min
EBACTH	Extrato concentrado após evaporação
EPE	Extrato após o tratamento enzimático com PME por 30 min
EPF	Extrato após ultrafiltração
EUF	Extrato da ultrafiltração por 20 h
FT-NIR	Infravermelho próximo com transformada de Fourier
GABA	Ácido $\gamma$ -aminobutírico
GAIDH	L-gulono-1,4-lactona oxidase
HPLC	High performance liquid chromatography
IAA	Ácido isoascórbico
INC	Incorporação
IV	Infravermelho
MSC	Correção de dispersão multiplicativa
NIR	Infravermelho próximo
PE	Pernambuco
PLS	Regressão por mínimos quadrados parciais
PME	Pectina metil esterase
RMSECV	Raiz quadrada do erro quadrático médio de validação cruzada
RMSEP	Raiz quadrada do erro quadrático médio de previsão
R <sup>2</sup>	Coefficiente de determinação

SNV	Transformação padrão normal de variação
SS	Sólidos solúveis
TCA	Ácido tricloroacético
US	Dólar americano

## LISTA DE SÍMBOLOS

\$	Dólar
%	Porcentagem
©	Copyright
°C	Graus Celsius
®	Marca Registrada

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	18
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRAFICA</b> .....	20
2.1	Relevância comercial da acerola .....	20
2.2	Aspectos botânicos da aceroleira .....	21
2.3	Pós-colheita de acerola .....	22
2.4	Extração e determinação de vitamina C de acerola .....	23
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
3.1	Condução do experimento 1: Monitoramento da extração de vitamina C empregando modelos de calibração multivariados por espectroscopia NIR .....	28
3.1.1	<i>Amostragem</i> .....	28
3.1.2	<i>Determinação de Vitamina C Total</i> .....	28
3.1.3	<i>Aquisição dos espectros por NIR</i> .....	29
3.1.4	<i>Ferramentas quimiométricas - Análise de dados</i> .....	29
3.2	Condução experimento 2: monitoramento do conteúdo de vitamina c em acerolas ‘Apodi’ imaturas sob diferentes condições de armazenamento .....	30
3.2.1	<i>Amostragem</i> .....	30
3.2.2	<i>Conteúdo de sólidos solúveis (SS)</i> .....	30
3.2.3	<i>Conteúdo de vitamina C total</i> .....	31
3.2.4	<i>Análise estatística</i> .....	31
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	32
4.1	Experimento 1: Monitoramento da extração de vitamina C empregando modelos de calibração multivariados por espectroscopia NIR .....	32
4.1.1	<i>Determinação de vitamina C pelo método de espectrofotometria</i> .....	32
4.1.2	<i>Bandas de absorção na região NIR</i> .....	33
4.1.3	<i>Modelos de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS)</i> .....	35
4.2	Experimento 2: Monitoramento do conteúdo de vitamina C em acerolas ‘Apodi’ imaturas sob diferentes condições de armazenamento.....	40
4.2.1	<i>Conteúdo de sólidos solúveis</i> .....	42
4.2.2	<i>Conteúdo de Vitamina C</i> .....	44
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	46



5.1	Experimento 1: Monitoramento da extração de vitamina C empregando modelos de calibração multivariados por espectroscopia NIR .....	46
5.2	Experimento 2: Monitoramento do conteúdo de vitamina C em acerolas ‘Apodi’ imaturas sob diferentes condições de armazenamento .....	47
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	48

## 1 INTRODUÇÃO

A acerola (*Malpighia emarginata* D.C) tornou-se conhecida e apreciada pelo seu sabor agradável e alto conteúdo de compostos antioxidantes, tais como vitamina C, carotenoides e compostos fenólicos (HANAMURA *et al.*, 2006; MODESTO JUNIOR *et al.* 2016). A vitamina C participa de inúmeras funções do desenvolvimento e manutenção do corpo humano, como a produção de colágeno, o processo de cicatrização e defesa imunológica (MAHAN, SCOTT 2005; RITZINGER; RITZINGER, 2011), o que a torna muito apreciada pelos consumidores.

A acerola quando colhida em maturidade fisiológica permite o armazenamento em temperatura ambiente durante apenas 4 dias ou até 12 dias em refrigeração a 12°C (MOURA *et al.* 2007). Entretanto, em condições apropriadas, a respiração e o metabolismo dos frutos são reduzidos, mantendo as qualidades organolépticas por maior período (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A temperatura, o tempo de armazenamento e os fatores genéticos são os fatores que mais afetam a fisiologia e a qualidade pós-colheita de frutos. Temperaturas baixas reduzem o metabolismo e aumentam a vida pós-colheita de produtos agrícolas, entretanto, temperaturas baixas também podem causar injúrias por frio (CRISOSTO *et al.* 1999). Causando distúrbios fisiológicos que acarretam lesões ao tecido vegetal levando à produção de substâncias químicas indesejáveis e eventualmente, até a morte celular (AADIL *et al.* 2019). Sendo um fruto climatérico a acerola tem um rápido processo de maturação e por isso, há necessidade de maior controle pós-colheita para manutenção da qualidade, como o conteúdo de vitamina C.

Na pós-colheita, em decorrência do armazenamento e processamento, a degradação da vitamina C pode ser potencializada com a sua oxidação (LIMA *et al.* 2000; PLAZA *et al.* 2006), devido a alterações na temperatura, oxigênio, incidência de luz, danos ao fruto. A vitamina C é marcador de qualidade do fruto (FERNANDES *et al.* 2007; DANIELI *et al.* 2009), portanto, o tempo e as condições de armazenamento devem estar de acordo com o tipo de processamento ou armazenamento.

Buscando avaliar o conteúdo e as formas de vitamina C em frutos íntegros e polpas durante o processamento e o armazenamento de polpa e acerolas *in natura*, foram empregadas diversas metodologias, Moraes *et al.* (2019) utilizou o como uso de infravermelho próximo com transformada de Fourier (FT-NIR, do inglês *Fourier-Transform Near-Infrared*) para prever o conteúdo de vitamina C em acerolas. Melagori *et al.* (2016)

mediu o conteúdo de vitamina C em acerola com diferentes estádios de maturação por imagem hiperespectral utilizando um FT-NIR; mas também utilizou a titulação pelo método de Tillmans para quantificar o conteúdo de vitamina C em polpas de acerola (VENDRAMINI; TRUGO, 2000; CÔRREA *et al.* 2017; ESTEVAM *et al.* 2018).

Estudos foram motivados pelo alto conteúdo de vitamina C em acerolas, sua determinação e método eficiente de extração, Vendramini e Trugo (2000) que utilizaram a cromatografia gasosa e espectroscopia de massa para analisar a polpa de acerola; Maciel *et al.* (2008) armazenou acerolas 15 dias em bandejas de poliestireno a temperatura de  $8\pm 2$  °C. Todavia, a maioria dos estudos avalia a conservação de frutos destinado a consumo in natura ou como polpa processada (BATISTA *et al.* 2000; NETO *et al.* 2014).

Baseado nessas informações, esse trabalho tem como objetivo avaliar etapas do processamento de acerola para a extração de vitamina C por espectroscopia IV associada a quimiometria, como também, definir as melhores condições de armazenamento da acerola imatura para a produção industrial de vitamina C.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

### 2.1 Relevância comercial da acerola

No Brasil, o plantio da acerola iniciou em 1955, no estado de Pernambuco com sementes vindas da Costa Rica, de onde se espalhou para as demais regiões do país atingindo até a escala comercial (RITZINGER; RITZINGER, 2011; BATAGLION *et al.* 2015; CRUZ *et al.* 2019). Em 2017, a região Nordeste se destacava como responsável por 70% da produção nacional sendo os principais produtores Pernambuco, Ceará e Sergipe (IBGE, 2019). Um dos motivos para a boa adaptação ao Nordeste é que as plantas são resistentes moderadamente ao déficit hídrico. Além disso, o cultivo de aceroleira é bem-sucedido graças as pesquisas agrônômicas que definiram o manuseio pré e pós-colheita, somadas aos programas de melhoramento que desenvolveram variedades adaptadas e resistentes ao clima, doenças e insetos (MAZARO *et al.* 2015). Assim, no Brasil, mais de 42 variedades cultivadas foram selecionadas quanto a produtividade e conteúdo de vitamina C de acerola como Apodi, Cabocla, Cereja, Frutocor, Okinawa, Oliver, Rochinha, Rubra e Sertaneja (NETO *et al.* 2014).

A produção de acerola no Vale do São Francisco em Petrolina - PE equivale a 50% da produção do estado, em 2017 foi de aproximadamente 21.351 toneladas com 1.465 hectares plantados (IBGE, 2019). O aumento da produção reflete a procura do mercado por frutos verdes para extração de vitamina C, permitindo um preço melhor com a produção voltada para as indústrias. No Ceará, foram colhidas mais de 800 toneladas com uma receita de R\$ 1,2 milhões (IBGE, 2019).

A produção comercial da acerola está dividida em dois grandes grupos que usam frutos maduros, sendo 46% dos frutos utilizados no beneficiamento de produtos como polpas, sucos, geleias, sorvetes, xaropes e licores, enquanto 54% destinam-se ao consumo *in natura* (SILVA *et al.* 2016; JAESCHKE *et al.* 2016; BEZERRA *et al.* 2017; ALMEIDA *et al.* 2019). No entanto, o mercado global para vitamina C extraída de acerolas imaturas foi avaliado em US\$ 8.675,8 milhões em 2017, e deve registrar um crescimento de 8,4% nos próximos anos (MARKET RESEARCH FUTURE, 2019) e atinja US \$ 4 bilhões entre 201-2024 (MARKET RESEARCH FUTURE, 2020). Isso deve-se a várias empresas que operam no mercado global de extratos de acerola como a Blue Macaw Flora Inc.; Nutrilite® - Amway Inc.; Diana Naturals Inc.; Duas Rodas Industrial Ltda, Herbal Bio Solutions Inc.; Nature's Power Nutraceuticals Corp.; Nichirei Corporation; NutriBotanica Inc.; Optimally Organic Inc.; e a Green Labs LLC (MARKET RESEARCH FUTURE, 2019). Podemos destacar a empresa

Nutrilite® - Amway Inc. que possui uma sede no Ceará e extrai vitamina C de acerolas cultivadas no sistema de cultivo orgânico. A extração de compostos bioativos como vitamina C aumenta o valor comercial da matéria-prima e a rentabilidade no processamento (REZENDE *et al.* 2018), uma vez que o mercado consumidor busca produtos nutritivos ou enriquecidos (BELWAL *et al.* 2018).

A vitamina C não é sintetizada pelos humanos é adquirida por meio da alimentação (LEE; KADER, 2000), pois os primatas perderam o gene que codifica a enzima L-gulonono-1,4-lactona oxidase (GalDH) que catalisa a última reação de sua biossíntese (FANG *et al.* 2017). Também é um antioxidante pois reduz ou inibe os radicais livres, a vitamina C é hidrossolúvel e participa como cofator enzimático de muitas reações como na absorção de ferro, na síntese de colágeno e de hormônios (SPINOLA *et al.* 2014; JAESCHKE *et al.* 2016).

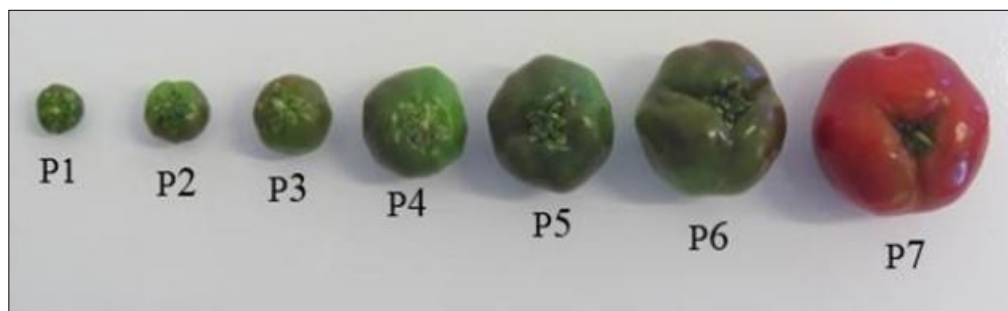
## 2.2 Aspectos botânicos da aceroleira

A aceroleira (*Malpighia emarginata* DC.) é uma planta dicotiledônea, nativa da América Central e pertencente à família Malpighiaceae que contém cerca de 45 espécies de arbustos ou pequenas árvores (MEZADRI *et al.* 2008). Essa é uma árvore rústica com flores hermafroditas dispostas em pequenos cachos pedunculados localizados nas axilas das folhas de ramos novos (RITZINGER; RITZINGER, 2011; BATAGLION *et al.* 2015).

O ciclo fenológico dos frutos depende das condições climáticas que possuem influência direta no desenvolvimento, podendo reduzir o tamanho do ciclo nos períodos mais quentes. No Nordeste, a aceroleira produz de 3 a 4 safras por ano, as quais podem aumentar em cultivos irrigados (EMBRAPA, 2012). Uma característica da aceroleira é apresentar flores e frutos em diferentes estádios de formação ao mesmo tempo, promovendo desuniformidade na produção, o que pode dificultar os tratamentos culturais, assim como a previsão do momento ideal de colheita (PONTES *et al.* 2015).

A acerola é um fruto tipo drupa tricarpelado com tamanho entre 1 a 4 cm e peso de 2 a 16 g (RITZINGER; RITZINGER, 2011). O período do ciclo floral desde a antese ao amadurecimento dos frutos dura entre 20 e 32 dias (EMBRAPA, 1996; PONTES *et al.* 2015). O epicarpo ou casca do fruto é fino e exibe alteração na coloração para vermelho durante o amadurecimento, o mesocarpo é carnoso e possui três sementes trilobadas de 3 a 5 mm (VENDRAMINI; TRUGO, 2000; NOGUEIRA *et al.* 2002; FREITAS *et al.* 2006; RITZINGER; RITZINGER, 2011; DELVA; SCHNEIDER, 2013). O sabor do fruto maduro varia de levemente até muito ácido (JAESCHKE *et al.* 2016).

Os estádios de desenvolvimento dos frutos são observados por alterações na coloração e no tamanho, definidos segundo PONTES *et al.* (2015) enumerados de P1 até P7 (Figura 1). Os frutos maduros (P6, P7) são destinados às indústrias e comércio *in natura*, enquanto os frutos no estágio P5 colhidos dentre 15 a 17 dias após a antese, são destinados para extração de vitamina C.



**FIGURA 1:** Ciclo fenológico de acerolas da variedade BRS 235 – Apodi desde o início do desenvolvimento (P1) até a (P7). Fonte: Pontes et al., (2015).

### 2.3 Pós-colheita de acerola

Os frutos da aceroleira são muito perecíveis e uma das possibilidades para garantir suas propriedades nutricionais pós-colheita, além do armazenamento adequado, é o processamento. Mesmo que a produção seja destinada para a indústria, os frutos devem apresentar características desejáveis como tamanho, coloração, aroma, sabor e textura, que precisam ser preservadas pelo maior tempo possível antes do processamento (ALVES et al. 2005).

A qualidade pós-colheita é reduzida rapidamente devido ao aumento das taxas de respiração da acerola e transpiração levando a deterioração com perda de peso, mudanças de cor e amaciamento (AADIL et al. 2019). Como frutos climatério a acerola madura tem pico respiratório de 900 mL de CO<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> associado a aumento na produção de etileno até 3 µL de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>.kg<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> (CARRINGTON; KING, 2002; RITZINGER; RITZINGER, 2011). Durante o amadurecimento há alterações físico-químicas no fruto como perda da firmeza, alteração na coloração do tegumento (verde para vermelho), acúmulo de açúcares e malato, redução do ascorbato (RITZINGER, RITZINGER 2011).

O processo de respiração dos frutos a energia livre é liberada, após ser transitoriamente armazenada na forma de adenosina trifosfato (ATP), o qual pode ser prontamente utilizado. Cada espécie apresenta uma taxa respiratória específica e esta atividade pode variar entre as cultivares, relação entre a área superficial e o volume, a

temperatura de armazenamento, a concentração de gases atmosféricos, além de danos mecânicos entre outros (MAIA et al. 2003).

Estes fatores somados ao epicarpo delicado da acerola influenciam diretamente no período de conservação pós-colheita e pode resultar em perdas de até 40% dificultando a comercialização do fruto fresco (REIS et al. 2017; MALEGORI et al. 2017). Para aumentar a vida útil da acerola, deve-se controlar as taxas respiratórias e de síntese de etileno e o método mais comum e eficiente é a redução da temperatura de armazenamento (RITZINGER; RITZINGER, 2011). Em algumas situações, é necessário o uso de técnicas de processamento capazes de garantir as características de interesse dos frutos.

O frio reduz a deterioração dos frutos, por isso é indicado a armazenamento sob baixas temperaturas para reduzir a respiração e retardar a deterioração microbiana (LAMIKANRA, 2002). Exemplos de tecnologias empregadas no armazenamento são atmosferas hipobárica ou hiperbárica, ionizante, radiação ultravioleta, campo eletrostático de alta pressão, campo magnético, ultra-som, plasma e película de gelo. As tecnologias utilizadas no armazenamento auxiliam na preservação da qualidade nutricional (AADIL et al. 2019), pois, compostos bioativos sofrem alterações na pós-colheita. Lim e Eom (2018) relataram que kiwis apresentaram mudanças no conteúdo de bioativos tanto na pré- como na pós-colheita, o teor de SS aumentou 124%, enquanto o teor de vitamina C baixou 88,83%.

Oliveira et al, (2011) analisando o potencial antioxidante de polpas de acerola congeladas a -18 °C por 11 meses, verificaram redução gradativa no conteúdo de vitamina C, com destaque para a variedade II47/1 que teve redução de 64 %. Enquanto, Souza et al, (2014) aferiu redução de 57,5% do teor de vitamina C em polpas de acerola analisadas em diferentes estádios de maturação.

O conteúdo de SS é usado como indicador de amadurecimento de frutos e polpas de acerola armazenadas. Souza et al, (2014) comprovou este fato, analisando quatro estádios de maturação de três cultivares de acerolas, entre o estágio imaturo (verde) ao estágio maduro (vermelho) teve acréscimo de 34% no teor de SS. Oliveira et al, (2012) também analisando o estágio de maturação de acerolas obteve resultados similares, tendo aumento no teor de SS de 25% entre frutos imaturos e maduro.

#### 2.4 Extração e determinação de vitamina C de acerola

O maior atrativo comercial da acerola é o seu alto teor de vitamina C entre 1 a 4,5% (p.p-1) (MEZADRI et al. 2008; VENDRAMINI; TRUGO, 2000). O fruto também

possui outros compostos fitoquímicos em grandes quantidades, como: os ácidos málico, cítrico e tartárico, frutose, glicose e aminoácidos (RIGHETTO et al. 2005; HANAMURA et al. 2008; BELWAL et al. 2018). O conteúdo de polifenóis totais extraíveis de 6430 - 7510 mg kg<sup>-1</sup> de polpa, antocianinas de 37,9 - 597,4 mg kg<sup>-1</sup> de polpa (MEZADRI et al. 2008); carotenoides dentre 3,2 - 406 mg kg<sup>-1</sup> de polpa (LIMA et al. 2005), com o β-caroteno representando 40-60% do total. Devido ao somatório das características químicas e nutricionais a acerola foi classificada como um alimento funcional e nutracêutico (Tabela 1), (FREITAS et al. 2006; MALEGORI et al. 2017; MARQUES et al. 2016).

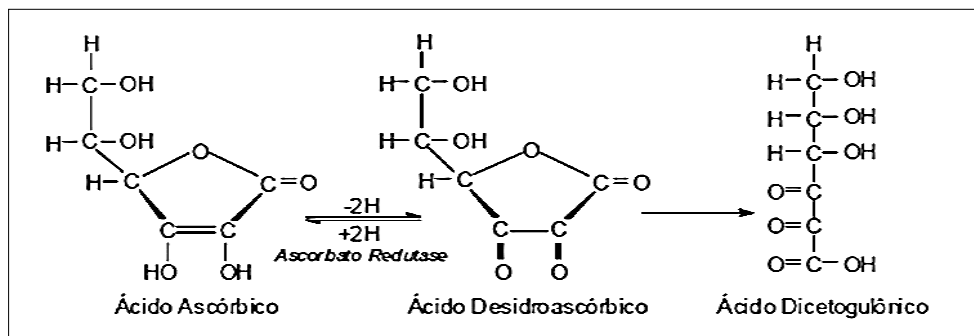
**Tabela 1:** Composição química da acerola madura

<b>Componente</b>	<b>Quantidade para 1000g de polpa</b>
Calorias	332 kcal
Carboidratos	35,7-78 g
Proteínas	2,1-8 g
Lipídios	2,3-8 g
Fósforo	171 mg
Cálcio	117 mg
Ferro	2,4 mg
Piridoxina	87 mg
Riboflavina	0,7 mg
Tiamina	0,2 mg
Água	906-920 g
Fibra dietética	30 g

Fonte adaptada de MEZADRI *et al.*, 2006; MARQUES *et al.*, 2013

A vitamina C (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) ou 2-oxi-L-treohexônio-1,4-lactona-2,3-enedio ou ácido L-ascórbico (AA) é a principal forma com atividade biológica ativa da vitamina C, que tem como forma oxidada o DHA também apresentam atividade biológica apesar do menor poder antioxidante e pode ser reduzida a AA, em uma reação reversível. Além da forma oxidada gerada a partir do DHA a 2,3-ácido dicetogulônico (DCG) é irreversível e não tem função biológica de vitamina C (LEE; KADER, 2000; RINNAN et al. 2009). A concentração e o equilíbrio entre o AA e DHA estão relacionados com as condições pré e pós-colheita, entretanto durante o desenvolvimento dos frutos, o DHA representa aproximadamente 10% da vitamina C total e durante o armazenamento pós-colheita pode aumentar devido a degradação de AA (SPINOLA et al. 2014).





**Figura 2.** Reação de oxidação do ácido ascórbico (AA) a ácido desidroascórbico (DHA) e de hidrólise deste último ao ácido 2,3-ácido diketogulônico (DCG).

Dentre os compostos bioativos, a vitamina C é um dos mais sensíveis à degradação por diversos outros fatores como: temperatura, oxigênio, luz, pressão, íons metálicos, açúcares, pH e enzimas (ALAMAR et al. 2016, MDITSHWA et al. 2017), todavia, por seu potencial antioxidante, representa uma referência valiosa para o valor nutricional de um fruto (LIM e EOM, 2018). Devido ao elevado conteúdo de vitamina C, a acerola, principalmente em estágio imaturo é utilizada para enriquecimento de alimentos como produtos em pó, fármacos e concentrados (DELVA; SCHNEIDER, 2013).

Os frutos selecionados para a produção do extrato de vitamina C são colhidos no estágio imaturo, com maior conteúdo de vitamina C e coloração verde baseado nos estudos de Pontes et al. (2015), determinou como o estágio P5 para a variedade Apodi- BRS 235. Há várias técnicas para obtenção dos extratos como maceração, infusão, percolação, decocção, extração contínua quente (Soxhlet), extração em contra-corrente, extração assistida por microondas, ultra-som, fluido supercrítico e turbólise. Além de extração líquida pressurizada, extração de líquidos com expansão gasosa e extração com fluido supercrítico, que são ferramentas eficientes para extrair bioativos de fontes naturais (GALLEGO et al. 2019). Entretanto, os fatores que influenciam a extração são material vegetal utilizado, a origem deste, o grau de processamento para obtenção do extrato puro e o grau de pureza, o tamanho da partícula, tipo e concentração do solvente utilizado, tempo de extração, temperatura, polaridade da molécula extraída (GALLEGO et al. 2019).

A extração de compostos bioativos, como vitamina C, tem como base matrizes vegetais que são complexas e dependente de diversas etapas como despolpa, tratamento enzimático para quebra das paredes celulares, adição de hidróxido de cálcio que auxilia na estabilidade do pH e na precipitação de partículas, seguindo pela decantação e filtração e

ultrafiltração, até a concentração. A última etapa do processamento pode ser seguida pela liofilização (pó) e encapsulamento do extrato (SEBRAE, 2016).

O monitoramento da qualidade pós-colheita dos produtos in natura ou processados tornou-se essencial. Por isso, o desenvolvimento de técnicas analíticas quantitativas e qualitativas de frutos e seus derivados, é um importante campo de pesquisa para avaliar a qualidade ou os componentes, além de verificar a origem dos alimentos (SPINOLA et al. 2014). Dentre metodologias tradicionais para determinação de vitamina C, está a titulometria com os reagentes como 2,6-diclorofenolindofenol, iodato de potássio ou bromato (ARYA et al. 2000), a qual se apresenta como um método demorado e de considerável erro experimental na determinação do ponto de viragem por parte do operador. Este método pode ter várias adaptações, uma vez que não é aplicável a muitas preparações farmacêuticas contendo óxido de ferro (Fe (II)), óxido de estanho (Sn (II)), iodeto de cobre (Cu (I)), dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>), óxido sulfúrico (SO<sub>3</sub>) e tiosulfato (S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>), além de sua aplicabilidade restrita a amostras que não contêm minerais e/ou corantes comestíveis como amaranço, indigotina e tetrazina, os quais devem ser removidos antes da análise por técnicas como troca iônica ou adição de carvão (ARYA et al., 2000). Utilizando a titulação Corrêa et al. (2017) avaliando alterações nas características físico-químicas de diferentes estádios de maturação do cultivar 'Oliver'

Métodos precisos de determinação do AA como espectrofotometria, fluorimetria, métodos cromatográficos, eletroquímicos e enzimáticos têm sido relatados na literatura (ARYA et al. 1998, 2000). Ao consideramos o potencial de degradação de AA dependendo das condições de armazenamento, do preparo da amostra e de extração, é importante desenvolver e validar cuidadosamente os métodos analíticos usados para determinação de vitamina C em amostras de alimentos. Então, para que os resultados obtidos sejam confiáveis para validação de um procedimento analítico quantitativo, há um conjunto de elementos-chave que são geralmente aceitos: seletividade, linearidade, estabilidade, exatidão, precisão, e o limite inferior de quantificação (SPÍNOLA et al. 2014).

Um dos métodos analíticos de referência para determinação de vitamina C é por espectrofotometria proposto por Chen e Wang (2000). A determinação é realizada para AsA e DHA em plantas foi adaptado de um protocolo usado para plasma sanguíneo. O método se baseia na redução do Fe<sup>3+</sup> a Fe<sup>2+</sup> pelo AA e na detecção espectrofotométrica a 525 nm do complexo do Fe<sup>2+</sup> ligado ao 2,2'-piridina. O DHA é reduzido a AA por pré-encubação da amostra com ditiotreitól (DTT) e o excesso de DTT é removido com N-etilmaleimida (NEM)

e o ascorbato total formado é determinado pelo método da 2,2'-bipiridina. A concentração do DHA oxidado é calculada pela diferença da vitamina C total e do AsA reduzido.

Os métodos analíticos cromatográficos têm melhor sensibilidade e seletividade, em contrapartida, precisa de equipamentos especializados e procedimentos demorados, como: a cromatografia líquida de alta performance (HPLC, do inglês “High performance liquid chromatography”) que é precisa e adequada à uma gama de amostras, mas necessário tempo, mão de obra especializada, além de alto custo dos equipamentos. Mezadri et al. (2008) analisou diferentes marcas de polpa de acerola comerciais e verificou as formas químicas da vitamina C em ácido ascórbico total, ácido ascórbico e ácido dehidroascórbico com propósito de quantificação dos compostos.

Métodos fotométricos são simples e rápidos, os quais não demandam de preparação de amostras como o NIR (ARYA et al. 2000; IGNAT et al. 2012). Todavia, o uso de infravermelho como método analítico possui a limitação da não detecção de constituintes em concentrações abaixo de 0,1%, diferente dos métodos usados como referência (espectrofotometria ou cromatográfica) que não têm tal requerimento (GARCIA et al. 2013).

O espectro do infravermelho é dividido nas faixas distante, média e próxima, de modo que a luz emitida possui energia capaz de induzir vibrações atômicas que permitem a identificação de moléculas devido as diferenças com que elas refletem a luz. Assim, nos espectros de NIR temos uma relação entre o comprimento de onda e a intensidade da refletância (AMODIO et al. 2017). Os dados fornecidos pelo NIR precisam ser analisados de forma crítica e muitas vezes, até pré-tratamentos quimiométricos para retirar a interferência de fatores externos como a entrada de luz externa, a distância entre a amostra e o sensor, o tipo de sensor, a irradiância ideal, e o tempo de análise, para garantir a reprodutibilidade (SALGUERO-CHAPARRO et al. 2012). Portanto, a obtenção de modelos de calibração e validação de NIR robustos para aplicação no monitoramento de produção industrial depende da definição das etapas operacionais para avaliar a adequação de medição, de modo que a implementação do experimento deve ser estudada e otimizada para obter espectros confiáveis (SALGUERO-CHAPARRO et al. 2012).

Garcia et al, (2013) utilizou a tecnologia FT-NIR para detectar o conteúdo de vitamina C em acerolas, devido a baixa variabilidade das amostras foi adicionado ácido ascórbico (puro para análise), todas as amostras do estudo foram utilizadas para a criação de protocolo de calibração e validação dos dados pela quimiometria. Moraes et al, (2019) avaliado o conteúdo de vitamina C de frutos intactos de acerola, utilizou 70% dos dados para

calibração e 30% para a validação cruzada dos dados, como também pré-tratamentos para adequar o modelo quimiométrico.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Condução do experimento 1: Monitoramento da extração de vitamina C empregando modelos de calibração multivariados por espectroscopia NIR

##### *3.1.1 Amostragem*

Acerolas imaturas de cor verde com aproximadamente 20 dias após antese foram utilizadas para a produção do extrato, produzidas através de sistema de cultivo orgânico no estado do Ceará – Brasil. Os frutos foram submetidas ao sistema de processamento da empresa Nutrilite™ da Amway do Brasil localizada em Ubajara-CE, para elaboração do extrato rico em vitamina C. Os frutos selecionados foram despulpados e processados em diferentes etapas subsequentes para obtenção do extrato de vitamina C. Dentre as etapas de processamento, foram selecionadas as seguintes: 1- antes do tratamento enzimático com pectina metil esterase (PME) (EAE); 2 – após o tratamento enzimático com PME por 30 min (EPE); 3 - após tratamento com adição de hidróxido de cálcio (CaOH<sub>2</sub>) por 60 min (EAH); 4 - após decantação por 3 h e 30 min (DEC); 5 – durante a ultrafiltração por 20 h (EUF); 6 – após ultrafiltração (EPF); e 7 - extrato concentrado após evaporação (EBATCH). Em cada uma dessas etapas, foram coletadas quatro amostras (repetições) de 250 g cada e determinadas quanto ao conteúdo de vitamina C, em triplicata.

O grupo de amostras utilizado para calibração foi construído a partir de quatro repetições de cada etapa de processamento e mais um conjunto de amostras no grupo de calibração preparado a partir de diluições do extrato concentrado da etapa 7 (EBATCH) em água nas proporções 4:0; 3:1; 2:2; 1:3; 0,5:3,5 e 0,25:3,75 (v.v-1) equivalendo aproximadamente às concentrações de 10.000 (C0); 7.500 (C1); 5.000 (C2); 2.500 (C3); 1.250 (C4) e 500 (C5) mg.100 g<sup>-1</sup> de vitamina C, respectivamente. Para o grupo de validação externa, foram utilizadas cinco amostras retiradas em três etapas (inicial, intermediária e final) do processamento.

##### *3.1.2 Determinação da vitamina C Total*

O método analítico de referência utilizado para a determinação do conteúdo de vitamina C total utilizou uma adaptação da metodologia de CHEN e WANG (2000). Foram pesados 2 mL de extrato de diferentes etapas de processamento, os quais foram centrifugados à 15.000 x g por 15 min a 4 °C e após a centrifugação, foram pesados 0,1 mg do sobrenadante, homogeneizados com 25 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 5%, em agitador tipo vortex (agitador de tubos AP-56, Phoenix®) por 20 s e retiradas alíquotas de 50 µL. Em seguida, nas alíquotas foram adicionados 25 µL do tampão de fosfato monobásico 100 mM, pH 7,0; 175 µL de solução de reação, que continha 5 mL de TCA 10%, 5 mL de ácido fosfórico 44%, 5 mL de 2,2'-bipiridil 4% diluídos em etanol 70% e 2,5 mL de solução de tricloreto de ferro (FeCl<sub>3</sub>) 3%. A curva de padrão foi preparada com alíquotas de ácido ascórbico (AA) e TCA 5% com concentrações variando de 0 a 50 µL, além de 25 µL do tampão KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 100 mM, pH 7,0 e 175 µL de solução de reação supracitada. Uma vez preparadas, as amostras foram agitadas por 5 segundos e incubadas à 37 °C por 60 min e então, analisadas em espectrofotômetro (Synergy HT, Bio-Tek® Instruments, Inc., VT-EUA) por monitoração da absorbância a 525 nm e os resultados foram expressos em mg.100 g<sup>-1</sup>.

### *3.1.3 Aquisição dos espectros por NIR*

Os dados de absorção molecular na região do NIR foram obtidos em alíquotas de 2 mL do extrato de vitamina C, usando amostrador líquido (Pkg 100) do espectrômetro PerkinElmer® Frontier FT-IR/NIR modelo Spectrum 100N (MA, EUA), à temperatura de 18 (±2) °C, com configuração de 32 varreduras na faixa de 800 a 2.500 nm e resolução de 4 cm<sup>-1</sup>.

### *3.1.4 Ferramentas quimiométricas - Análise de dados*

Os pré-tratamentos espectrais e a construção dos modelos foram realizados usando pacote quimiométrico The Unscrambler X® versão 10.4.1 (Camo Analytics, Noruega). Foram avaliados os pré-tratamentos com correção de dispersão multiplicativa (MSC), transformação padrão normal de variação (SNV) e primeira derivada por algoritmo Savitzky-Golay. Os modelos de regressão multivariados foram desenvolvidos de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) e validação interna cruzada total. Cada modelo de regressão construído foi validado por amostras externas ao grupo de calibração.

As recomendações da norma ASTM E1655-05 (ASTM, 2012) foram seguidas para os procedimentos para quantificação de espécies químicas utilizando a espectroscopia no infravermelho. E o desempenho desses modelos foi avaliado utilizando como parâmetros o coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>), raiz quadrada do erro quadrático médio de validação cruzada (RMSECV) e o raiz quadrada do erro quadrático médio de calibração (RMSEP).

### 3.2 Condução experimento 2: Monitoramento do conteúdo de vitamina C em acerolas ‘Apodi’ imaturas sob diferentes condições de armazenamento

#### 3.2.1 Amostragem

Frutos de aceroleiras (*Malpighia emarginata* DC) da variedade BRS 235 ou ‘Apodi’, foram produzidos pelo sistema orgânico no pomar experimental na fazenda da empresa Nutrilite-Amway do Brasil localizada em Tianguá-CE, latitude de 3° 51' 12"S, longitude de 41° 5' 10"W, altitude 710 m, temperatura média anual de 25 °C e precipitação pluviométrica com média anual de 600 mm. As acerolas foram colhidas manualmente, entre 20 e 25 dias após a antese, no estágio de maturação verde, classificado como P5, que são frutos verdes com conteúdo de vitamina C (PONTES et al. 2015). Os frutos foram higienizados em água potável e submetidos aos tratamentos.

Os frutos foram submetidos a três diferentes condições de armazenamento e temperatura, um tratamento consistia de embalagem em sacos de PVC (policloreto de vinila) contendo 250 g de frutos e armazenamento refrigerado a 4 °C (FER), enquanto que o segundo tratamento consistia de 250 g de frutos não embalados, mas refrigerados 4 °C (FR), o último tratamento consistia em frutos embalados em sacos de PVC e congelados a -18 °C (FEC). Amostras (quatro repetições com 250 g cada) de cada tratamento foram retiradas e avaliadas diariamente por 15 dias, porém, após esse período, os frutos do tratamento FEC continuaram armazenados e foram avaliados a cada 10 dias, por um total de 90 dias. Em cada período de avaliação, as amostras foram processadas e congeladas.

#### 3.2.2 Conteúdo de sólidos solúveis (SS)

A polpa em temperatura ambiente foi filtrada em papel de filtro qualitativo e o conteúdo de sólidos solúveis foi medido usando refratômetro analógico (KASVI® K52), sendo os resultados expressos em °Brix.

### 3.2.3 Conteúdo de Vitamina C total

O conteúdo de vitamina C foi mensurado de acordo com metodologia de Chen e Wang (2000) com 100 mg da polpa adicionados a 25 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 5%, macerados por 1 min e centrifugados (Centrifuga Sigma 2-16 KL) à 15000 x g por 15 min a 4 °C. O sobrenadante foi separado e utilizado como extrato para a determinação de vitamina C.

Na quantificação de vitamina C total (AA+DHA), foram utilizados 50 µL de extrato, 12,5 µL de ditioneitol (DTT) a 200 mM, 12,5 µL do tampão monobásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 100 mM, pH 7,0; 175 µL de solução de reação que continha 5 mL de TCA 10%, 5 mL de ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) a 44%, 5 mL de 2,2'-bipiridil (C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>) a 4% e 2,5 mL de solução de tricloreto de ferro (FeCl<sub>3</sub>) a 3%. A mistura foi agitada por 5 s e incubada à 37 °C por 60 min e sua absorbância a 525 nm foi analisada em espectrofotômetro (Synergy HT, Bio-Tek® Instruments, Inc., VT-EUA), sendo os resultados expressos em mg. Kg<sup>-1</sup> massa fresca (MF).

Para a determinação de vitamina C reduzida (AA), foram utilizados 50 µL de extrato, 25 µL do tampão de fosfato monobásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 100 mM, pH 7,0 e 175 µL de solução de reação supracitada e a quantificação da vitamina C oxidada (DHA) foi determinada pela diferença entre os valores da vitamina C total e reduzida. Uma curva padrão foi preparada em concentração inversamente proporcional de ácido ascórbico P.A. e TCA a 5% com concentrações variando de 0 a 50 µL, nas quais foram adicionados, 25 µL do tampão de fosfato monobásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 100 mM, pH 7,0 e 175 µL de solução de reação.

### 3.2.4 Análise estatística

O experimento foi realizado segundo um delineamento experimental inteiramente casualizado, para os tratamentos FER, FR e FEC de acordo com o número de dias avaliados, entretanto foi realizado um comparativo de todos os tratamentos com 15 dias de avaliação segundo um delineamento fatorial (3 x 15). Para cada dia de avaliação, os tratamentos continham 4 repetições formadas por 250 g de frutos as quais foram analisados em triplicata. Os dados coletados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), no software SISVAR (versão 5.6) e as médias foram comparadas pelos testes de Tukey a 1% de probabilidade.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Experimento 1: Monitoramento da extração de vitamina C empregando modelos de calibração multivariados por espectroscopia NIR

#### 4.1.1 Determinação de Vitamina C pelo método de espectrofotometria

A Tabela 2 mostra os resultados obtidos para determinação do conteúdo da vitamina C nas diferentes etapas de processamento de acerola. O conteúdo médio de vitamina C da etapa inicial de processamento EAE foi 1.708,23 mg100 g<sup>-1</sup> e após a evaporação o extrato final (EBATCH), última etapa do processamento, com conteúdo médio 9.969,35 mg.100 g<sup>-1</sup>. As divergências observadas no conteúdo de vitamina C dentre as etapas de processamento é decorrente de diferentes lotes de amostras analisados.

O baixo conteúdo de vitamina C na etapa inicial é justificado pela adição de água durante o processo de extração. Enquanto a concentração na etapa EBATCH foi aproximadamente oito vezes mais concentrado que as demais etapas, a etapa final da produção do extrato é proveniente da secagem por atomização. Na produção de pastilhas mastigáveis de vitamina C apresentam uma concentração muito alta como uma estratégia para evitar perdas devido à degradação do produto e praticidade de comercialização (ABE-MATSUMOTO et al. 2018).

**Tabela 2.** Determinação de vitamina C durante a preparação do extrato concentrado à base de acerola.

Etapas*	C (mg 100 g <sup>-1</sup> )			
	Faixa	Média	Desvio padrão	Coefficiente de variação (CV)
EAE	1678,11 – 1746,32	1726,80	32,55	1,9
EPE	1222,48 – 1306,36	1275,75	36,92	2,9
EAH	1774,75 – 1822,72	1808,54	22,80	1,3
DEC	1226,28 – 1368,48	1283,62	61,45	4,8
EUF	1440,31 – 1567,87	1512,86	60,43	4,0
EPF	1188,39 – 1444,57	1318,83	128,00	9,7
EBATCH	9809,08 – 9959,74	9905,23	67,32	0,7

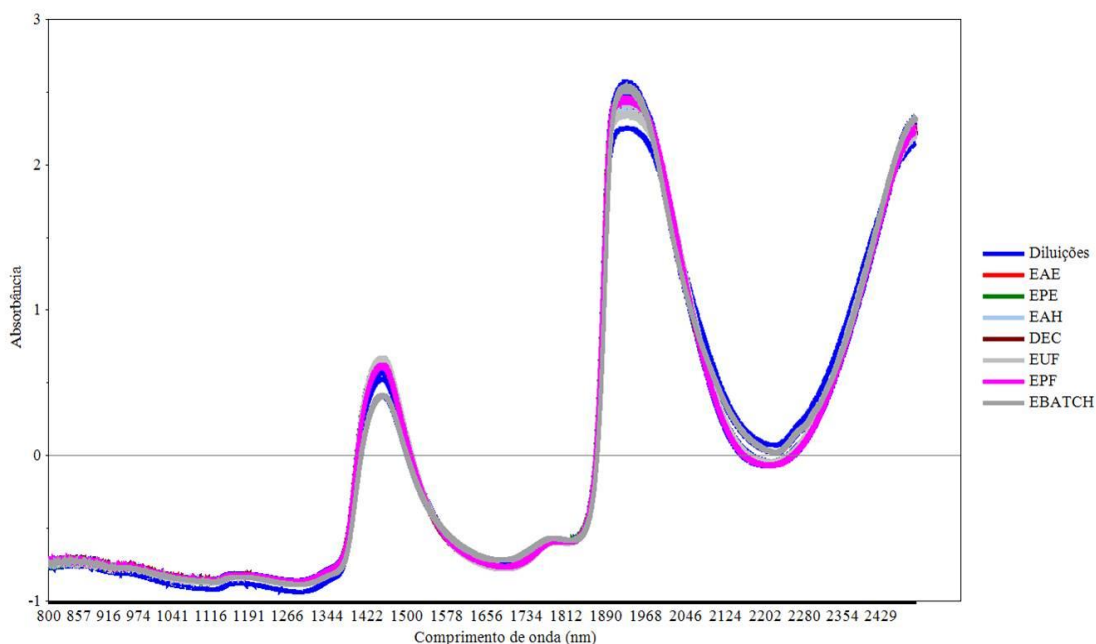
\* Etapas de processamento: antes do tratamento enzimático (EAE); após o tratamento enzimático (EPE); após tratamento com CaOH<sub>2</sub> (EAH); após decantação (DEC); durante a ultrafiltração (EUF); após ultrafiltração (EPF) e extrato concentrado (EBATCH).



#### 4.1.2 Bandas de absorção na região NIR

Os espectros das amostras coletadas durante o preparo do extrato de vitamina C de acerola foram coletados na faixa de 800 a 2.500 nm de absorbância (Figura 3). Em todas as etapas do processamento, foram observadas bandas espectrais com absorbâncias proeminentes nas regiões em 1.164; 1.340; 1.448; 1.779; 1.930; 2.289 e 2.492 nm. Os espectros de absorbância do NIR foram pré-processados por meio de primeira derivada, SNV e MSC para remoção da dispersão de luz, uma vez que as etapas EAE, EPE, EAH e DEC apresentavam partículas presentes nas amostras.

Identificamos os grupos funcionais da vitamina C nas bandas de absorção de 1145-1202 nm e 1727-2020 nm, além de um pico em 1148 nm. Os resultados observados por Moraes et al. (2019), que analisaram acerola íntegras com NIR, corroboram com os dados de identificação para as bandas de absorção da vitamina C com 1170-1180 nm, o que correspondeu ao segundo grupo metileno de sobretons e o pico de 1410 nm representou as bandas de combinação do grupo metileno do ácido ascórbico, enquanto a absorção de ácido ocorreu entre 1890 e 1950 nm.



**Figura 3:** Dados espectrais obtidos durante o processamento de acerola para extração de vitamina C. Etapas de processamento: antes do tratamento enzimático (EAE); após o tratamento enzimático (EPE); após tratamento com  $\text{CaOH}_2$  (EAH); após decantação (DEC); durante a ultrafiltração (EUF); após ultrafiltração (EPF) e extrato concentrado (EBATCH).

Na Figura 3 também podem ser observadas as bandas de absorção de água em 1.400; 1.775; 1.900; 2.275 e 2.400 nm, porém com uma variação nos valores de absorbância para as amostras das diferentes etapas de extração. As diferentes absorbâncias estão relacionadas as mudanças na concentração de vitamina C, uma vez que a amostra final EBATCH possui maior concentração de vitamina C. Este resultado adverte para a não remoção da banda de água, pois não causa interferência ou mascara a vitamina C. A banda de água presente em inúmeros alimentos foi observada com comportamento similar em leite, batata inglesa, carne, tofu, farinha de trigo e arroz também foram identificadas bandas de água nas regiões de 1.300; 1.700; 1.900; 2.200 e 2.500 nm (NING-PFAUE et al. 2003).

As bandas evidenciadas de 1.164; 1.340; 1.448; 1.779; 1.930; 2.289 e 2.492 nm (Figura 3) e suas vibrações em sobretons correspondentes podem ser observadas na Tabela 2. A região de 950 a 1.400 representa a primeira e segunda vibração de sobretons de alongamento associados ao O e H relacionados com a água (MAGWAZA et al. 2012; ARENDSE et al. 2018). A banda de absorção em 1.930 nm corresponde segunda vibração harmônica de alongamento associado a C=O, além da combinação da vibração de alongamento e flexão associado à O-H. Enquanto que, a região de 1.200 a 1.942 nm corresponde a primeira e segunda vibração harmônica de alongamento associado ao CH e independente da presença de açúcares orgânicos. Porém nessa região, também está incluída a terceira vibração harmônica relacionada à deformação das ligações OH, CH e CH<sub>2</sub> encontradas apenas na presença de soluções que contenham açúcares e ácidos orgânicos (ARENDSE et al. 2018; GOLIC et al. 2003). Açúcares e ácidos orgânicos foram identificados nas regiões de comprimento de onda entre 1.100 a 1.600 e 1.700 a 2.300 nm (GÓMEZ et al. 2006; LOUW; THERON, 2010).

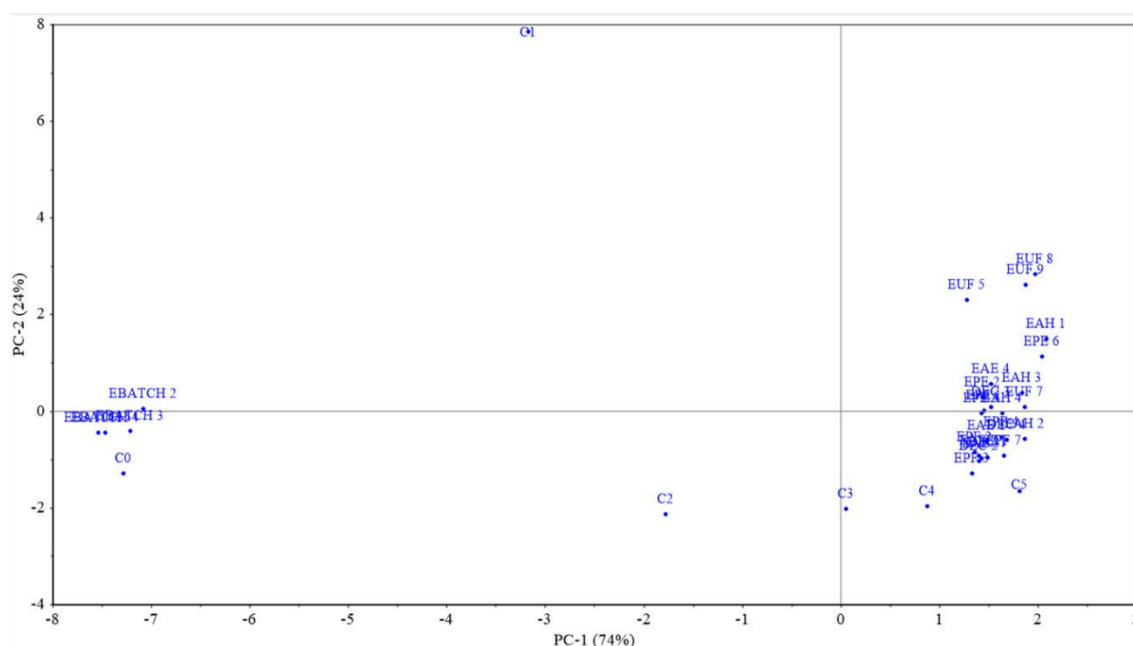
**Tabela 3:** Designação química de bandas de absorção na região NIR

<b>Comprimento de onda (nm)</b>	<b>Modo de vibração</b>
1.164	Segundo harmônico de alongamento C-H
1.340	Combinação de alongamento e flexão de C-H
1.448	Primeiro harmônico de alongamento O-H
1.779	Primeiro tom harmônico de alongamento C-H
1.930	Combinação alongamento e flexão de O-H e segundo harmônico de alongamento C=O
2.289	Combinação de alongamento e flexão de C-H
2.492	Combinação de C-H, C-C e alongamento de C-O-C

Portanto, os resultados apresentados na Tabela 2 permitem correlacionar com a molécula de vitamina C, a qual possui três grupamentos funcionais enol ( $-\text{CH}=\text{CH}-\text{OH}$ ), éster ( $\text{R}'-\text{COOR}''$ ) e álcool ( $\text{R}-\text{OH}$ ), aos quais podemos verificar os sobretons observados no espectro (Figura 3). No entanto, vale ressaltar que apesar da determinação do comprimento de onda e a atribuição das bandas terem sido realizados de acordo com a literatura (MAGWAZA et al. 2012; ARENDSE et al. 2017; ARENDSE et al. 2018), deve-se levar em conta a natureza física e química de cada amostra que podem contribuir para o deslocamento das bandas. Arendse et al. (2017) atribuíram as regiões de 1.064 e 1.333 nm e de 1.640 e 2.100 nm como correspondentes à vitamina C em seus ensaios para desenvolver um sistema de classificação de qualidade de fitoquímicos em arilos de romã, porém para romã inteira, as regiões designadas foram de 1.333 e 1.640 nm e de 1.836 e 2.175 nm (ARENDSE et al. 2018). Garcia et al. (2013) relatou que identificou bandas em 1.000; 1.514 e 2.082 nm para vitamina C em polpa de acerola.

#### *4.1.3 Modelos de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS)*

Inicialmente, foi realizado estudo exploratório dos dados para verificar similaridade das etapas do processo. A Análise de Componentes Principais (ACP) foi empregada no estudo (Figura 4), usando dados espectrais com pré-tratamento de transformação padrão normal de variação (SNV) para eliminação de interferências multiplicativas dos efeitos de dispersão e tamanho de partículas.



**Figura 4:** Gráfico dos escores da análise de componentes principais com dados espectrais com pré-tratamento por transformação padrão normal de variação (SNV).

A ACP confirmou a semelhança dos valores de vitamina C nas etapas de EAE, EAH, DEC, EPF, localizados a direita nos escores positivo da primeira componente principal. As amostras da etapa EBATCH estão localizadas no eixo negativo da primeira componente principal bem distante das demais etapas, entre os dois conjuntos de amostras estão as amostras diluídas da etapa EBATCH com diferentes níveis de concentração.

O comportamento similar das amostras dificulta a identificação das etapas especificamente, com exceção da EBATCH. Assim, iremos propor modelos de previsão de quantificação de vitamina C em três etapas diferentes, a etapa inicial (EAE), após a decantação (DEC) e o extrato final concentrado após evaporação (EBATCH). O uso do modelo com apenas três dentre as etapas de extração permitirá identificar a variação do conteúdo de vitamina C durante o processo, para possíveis correções durante a extração e concentração, como também poderá ser usado no controle de qualidade do extrato final (EBATCH) para verificação do conteúdo de vitamina C dentro do esperado. As três etapas selecionadas possuem concentrações de vitamina C estatisticamente diferentes, com 95 % de confiança, verificada pelo teste t de Student pareado com grau de liberdade igual 6.

Após a seleção das etapas para controle do processo, foram desenvolvidos os modelos de calibração multivariada, por mínimos quadrados parciais (PLS), com diferentes pré-tratamentos nos dados espectrais. Em conjunto com a análise de regressão multivariada

por PLS, foram avaliados métodos de pré-tratamento (Tabela 4) e os melhores métodos de pré-tratamento dos dados foram SNV, MSC e 1ª derivada com algoritmo Savitzky-Golay com janela de 10 pontos. O modelo de desempenho selecionado dentro dos métodos de pré-tratamento foi o SNV por ter o maior valor de R<sup>2</sup>, que foi 0,99 para calibração, e menor valor de RMSECV (451,79 mg. 100 g<sup>-1</sup>).

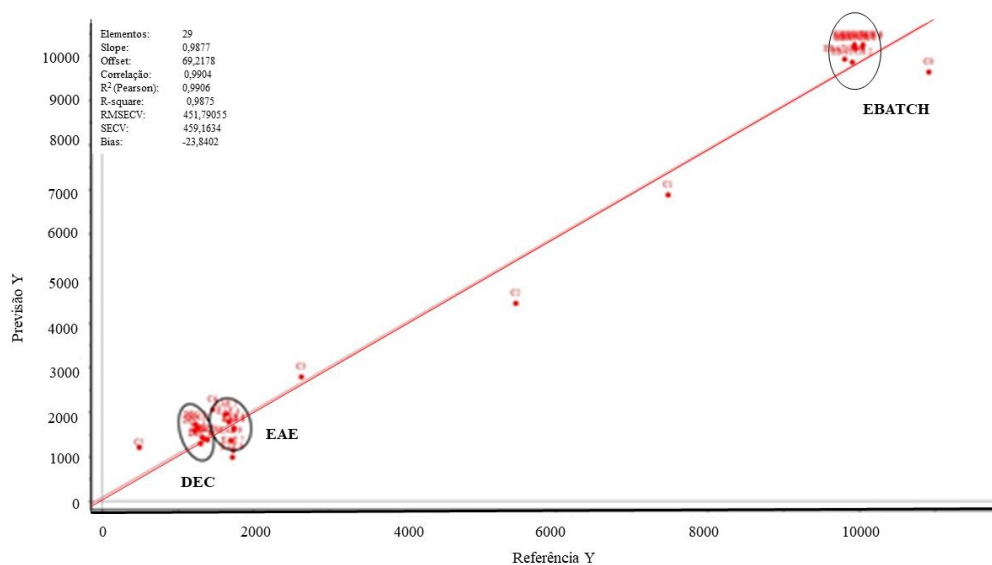
Os modelos foram confeccionados com 34 amostras (28 amostras do processamento e mais 6 amostras diluídas a partir da EBATCH), durante a modelagem identificou-se 5 amostras anômalas (outliers) pelo alto resíduo e influência no modelo, resultando por tanto, o grupo de 29 amostras para calibração dos modelos.

**Tabela 4:** Desempenho dos modelos de regressão multivariada por PLS para determinação de vitamina C usando espectros do NIR\*

Pré-processamento	Calibração (n = 29)				Validação interna (n = 29)			
	LV	Rc <sup>2</sup>	RMSEC	Rv <sup>2</sup>	RMSECV	Bias	slope	Corr
SNV	2	0,99	406,37	0,99	451,79	-23,84	0,98	0,99
MSC	2	0,99	406,74	0,99	452,37	-23,90	0,98	0,99
1ªDERIV	3	0,99	376,94	0,98	498,10	-10,54	0,97	0,99

\*LV= variáveis latentes; R<sup>2</sup> = coeficiente de determinação; RMSEC= erro do quadrado médio de calibração, RMSECV= erro do quadrado médio de validação interna; Bias= erro da variação sistemática, Slope= inclinação da reta; Corr= correlação.

O modelo de regressão por PLS com pré-tratamento com SNV apresentou o melhor desempenho (Figura 5), sendo possível verificar a boa definição das amostras nas três etapas do processamento do extrato de vitamina C de acerola. As amostras iniciais do processamento (EAE) estão localizadas na região entre as concentrações C4 e C3 das soluções diluídas (1.250 a 2.500 mg 100 g<sup>-1</sup>), as amostras intermediárias do processamento (DEC) estão localizadas entre as concentrações C5 e C4 das soluções diluídas (500 a 1.250 mg 100 g<sup>-1</sup>) e as amostras da etapa final (EBATCH) estão localizadas próximas da concentração C0 (10.000 mg 100 g<sup>-1</sup>).



**Figura 5:** Gráfico de Previsão x Referência da validação interna total (n =29), com as amostras das etapas EAE, DEC, EBATCH e soluções diluídas da EBATCH (C0-C5).

Para verificação do potencial do modelo em prever futuras amostras, seria realizada uma simulação de introdução da espectroscopia NIR na linha de produção do extrato de vitamina C a partir de acerola, para isso foi construído nova modelagem com 24 amostras (em conformidade com a ASTM E1655-05, que determina mínimo de 24 amostras para calibração multivariada) e validação externa de 5 amostras retiradas das três etapas distintas estatisticamente do processamento.

Os parâmetros do modelo de calibração e a validação externa de 5 amostras (Tabela 5) apresentaram erro de previsão (RMSEP) de 166,27 mg 100g<sup>-1</sup>, o que é um erro menor obtido na validação interna, e excelente correlação entre os valores previstos e os valores determinados pelo método de referência.

**Tabela 5:** Desempenho do modelo de regressão multivariada por PLS para previsão de vitamina C usando espectros do NIR.

Pré-processamento	Calibração (n = 24)				Validação externa (n = 5)			
	LV	Rc <sup>2</sup>	RMSEC	Rv <sup>2</sup>	RMSEP	Bias	slope	Corr
SNV	2	0,99	405,58	0,99	166,27	34,67	1,04	0,99

Os valores previstos pelo modelo NIR e a comparação com os valores determinados pelo método de referência (Tabela 6) apresentaram um erro médio relativo

inferior a 5%, o que representa um resultado promissor para o emprego da espectroscopia NIR no controle de qualidade durante o processamento industrial de acerola para extração de vitamina C.

**Tabela 6:** Previsão do conteúdo de vitamina C de amostras externas ao modelo de calibração, com erro relativo entre 0,78% a 3,18%

<b>Amostras</b>	<b>Previsto por NIR mg 100g<sup>-1</sup></b>	<b>Método Referência mg 100g<sup>-1</sup></b>	<b>Erro relativo %</b>
EAE 1	1608,10	1742,18	-7,70
EAE 2	1636,18	1746,32	-6,31
DEC 1	1415,96	1324,87	6,88
DEC 2	1379,17	1368,48	0,78
EBATCH 1	10257,84	9942,06	3,18

Para criação dos modelos, os dados de calibração e validação se basearam nos dados de referência (Tabela 2) com distribuição normal em torno da média. Os dados de referência são a base para formação de um modelo robusto e a interpretação do modelo depende da precisão e variação dos dados para obtenção de conjunto e calibração satisfatório (LU et al. 2006; ARENDSE et al. 2018), sendo assim, uma grande variação de resultados dentro das amostras interfere diretamente na resposta do modelo de previsão (MAGWAZA et al. 2012).

Ao se relacionar os baixos valores de CV, entre 1,0 a 8,7 (Tabela 2) com o alto valor de RMSECV 451,79 mg 100 g<sup>-1</sup> obtido segundo o modelo da SNV (Tabela 3), pode-se concluir uma baixa variabilidade no conteúdo de vitamina C das amostras durante o processamento de acerola e elaboração do extrato. Baseado neste resultado, a amostra concentrada EBATCH foi diluída em água para preparação de uma curva padrão de calibração aumentando a variabilidade e a previsão com o objetivo de diminuir os valores de RMSEC e RMSEP para todos os modelos, de modo que foram obtidos valores de R<sup>2</sup> e de correlação superiores a 97%. Os métodos se mostraram robustos, pois apesar de altos, os valores de RMSECV (451,79 mg 100 g<sup>-1</sup>) e de RMSEP (166,27 mg 100 g<sup>-1</sup>), ainda são pequenos quando comparados com o conteúdo médio de vitamina C da amostra mais concentrada EBATCH (9.969,35 mg.100 g<sup>-1</sup>), além de apresentaram valores de R<sup>2</sup> para calibração superiores a 0,98 e todos os valores de R<sup>2</sup> de validação igual a 0,99.

Malegori et al. (2017) avaliaram a concentração de vitamina C na polpa de acerola cv. Junko na maturidade fisiológica utilizando um espectrômetro Perkin-Elmer FT-NIR.

Segundo a análise de referência, o conteúdo médio de vitamina C era 2.844 mg.100 g<sup>-1</sup> com valores mínimo e máximo de 1.576 e 3.653 mg.100 g<sup>-1</sup>, respectivamente e os resultados obtidos por PLS mostraram valores de RMSEC de 145 mg.100 g<sup>-1</sup> e RMSEP de 360 mg.100 g<sup>-1</sup>. Os autores reafirmaram a validade de seu modelo baseado em um RMSECV com R<sup>2</sup> igual a 0,91 e RMSEP com R<sup>2</sup> igual a 0,71. Segundo Garcia et al. (2013), para evitar o baixo valor de CV, optaram pelo enriquecimento das amostras de polpa de acerola com soluções de ácido ascórbico, facilitando o estabelecimento de uma correlação significativa entre os métodos. Um aumento na variabilidade por enriquecimento de ácido ascórbico nas amostras de suco de tangerina resultando em maior CV, também foi relatado por Liu et al. (2008).

Moraes et al. (2019), analisou frutos íntegros de acerolas em diferentes estádios de maturação com FT-IR/NIR utilizando os pré-tratamento de MSC, 1<sup>a</sup> derivada e PLS para obter um modelo quimiométrico de previsão da concentração de vitamina C nos frutos e obteve RMSECV de 402,40 mg. 100g<sup>-1</sup> e RMSEP de 355,20 mg. 100g<sup>-1</sup>, essa combinação não teve bom desempenho para o modelo de previsão. Entretanto, quando os autores submeteram os dados ao modelo GA-PLS (algoritmo genético de mínimos quadrados parciais), após o processamento dos dados com 2<sup>a</sup> derivada, obtendo então, um modelo melhor com valores de RMSECV = 22,90 mg. 100g<sup>-1</sup> e RMSEP = 46,30 mg. 100g<sup>-1</sup>. Os autores explicaram que os dados possuem variação genética, por isso o uso do GA-PLS, o qual prevê a dentro da população as mutações e descendentes sendo adequado para frutos íntegros.

O erro de previsão (RMSEP 166,27 mg 100 g<sup>-1</sup>) obtido neste trabalho, apesar de mais alto que o erro do método de referência corrobora com o uso de espectroscopia NIR como uma metodologia promissora para o processamento de acerola com vistas a extração de vitamina C, pois a possibilidade de verificar o conteúdo de interesse em uma etapa intermediária (DEC) e final (EBATCH) na própria linha de produção, permite que ajustes sejam feitos para correção, caso necessários.

## 4.2 Experimento 2: Monitoramento do conteúdo de vitamina C em acerolas ‘Apodi’ imaturas sob diferentes condições de armazenamento

### 4.1.1 Conteúdo de sólidos solúveis

O conteúdo médio inicial de SS da acerola imatura ‘Apodi’ foi 7,05 °Brix o qual manteve-se estável durante os 15 dias de armazenamento (Tabela 7), o tratamento FR apresentou valor médio final de 7,30 °Brix, enquanto o tratamento FER apresentou 6,40 °Brix



e FEC apresentou menor valor médio com 6,00 °Brix, porém sem diferença estatística significativa a  $P \leq 0,01$  com o tempo zero de armazenamento.

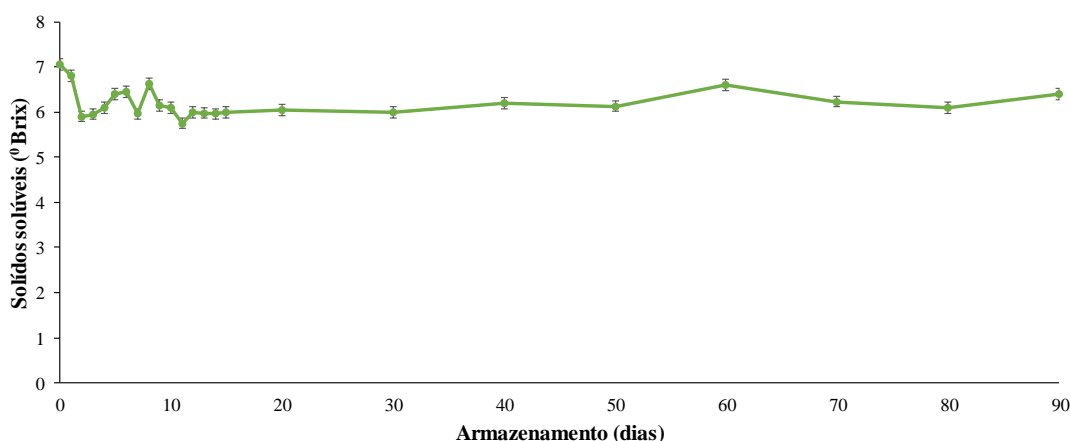
O tratamento FR permitiu o amadurecimento mais rápido dos frutos, quando comparado os tratamentos FER e FEC. Souza et al. (2014) avaliaram três variedades de acerola em quatro estádios de desenvolvimento e constataram que frutos maduros apresentavam maiores valores de SS. Oliveira et al. (2012) armazenaram a polpa de acerola congelada (-18 °C) por 330 dias e relataram que até os 90 dias de armazenamento, seus observaram diferenças significativas ( $P \leq 0,05$ ).

Estevam et al. (2018) estudaram cinco variedades de acerolas e encontraram valores SS entre 6,34 a 6,80 °Brix. Esses autores afirmam que o aumento do conteúdo de SS é ocasionado pelos processos de biossíntese ou pela degradação de polissacarídeos que está relacionado com o amadurecimento do fruto. Já, Corrêa et al. (2017) analisando acerolas do cultivar ‘Olivier’ em cinco diferentes estádios de maturação, não observou nenhuma diferença estatística no conteúdo de SS com valor médio de 6,53 °Brix.

**Tabela 7:** Conteúdo de sólidos solúveis (SS) das acerolas ‘Apodi’ verdes armazenadas por 15 dias sob refrigeração (FR), embaladas sob refrigeração (FER) e embaladas e congeladas (FEC).

Armazenamento (dias)	SS (°Brix)		
	FR	FER	FEC
0	7,05 ± 0,25 a	7,05 ± 0,25 a	7,05 ± 0,25 a
1	6,85 ± 0,11 a	6,90 ± 0,10 ab	6,80 ± 0,01 a
2	6,55 ± 0,25 ab	6,46 ± 0,25 ab	5,90 ± 0,11 bc
3	6,85 ± 0,37 a	6,25 ± 0,19 ab	5,95 ± 0,10 bc
4	6,95 ± 0,40 a	6,80 ± 0,10 ab	6,09 ± 0,04 ab
5	6,90 ± 0,48 a	6,60 ± 0,20 ab	6,40 ± 0,47 abc
6	7,10 ± 0,25 a	6,95 ± 0,25 ab	6,45 ± 0,46 abc
7	6,70 ± 0,44 a	6,65 ± 0,47 ab	5,96 ± 0,28 ab
8	7,06 ± 0,47 a	6,70 ± 0,19 ab	6,63 ± 0,27 ab
9	7,10 ± 0,16 a	6,20 ± 0,34 ab	6,15 ± 0,67 ab
10	6,70 ± 0,10 a	6,05 ± 0,47 b	6,10 ± 0,06 ab
11	5,80 ± 0,47 b	6,70 ± 0,40 ab	5,75 ± 0,08 c
12	7,10 ± 0,23 a	6,20 ± 0,11 ab	6,00 ± 0,50 ab
13	6,75 ± 0,25 a	6,35 ± 0,50 ab	5,98 ± 0,01 ab
14	7,10 ± 0,10 a	6,25 ± 0,25 ab	5,96 ± 0,33 ab
15	7,30 ± 0,32a	6,40 ± 0,11 ab	6,00 ± 0,66 ab
CV%	4,31	5,03	3,9

O tratamento FEC foi armazenado por 90 dias (Figura 6), durante o armazenamento o conteúdo de SS teve variações, o controle com valor de 7,05 e no 11º dia com valor de 5,75 °Brix, entretanto o conteúdo dos SS diferiu estatisticamente ( $p \leq 0,01$ ). Estes resultados são similares aos publicados por Oliveira et al. (2012) com polpa processada de seis variedades de acerolas, armazenadas por 330 dias a  $-18\text{ °C}$ , verificaram o aumento do °Brix no período de armazenamento, entretanto os valores também não apresentaram diferença estatísticas dentro de cada variedade. Durante o congelamento do fruto não há uma paralização das atividades metabólicas, há apenas uma redução. Araújo et al. (2007) avaliaram frutos de 6 variedades de acerola que foram embalados e armazenados por 12 dias a  $10\text{ °C}$  e observaram uma redução de até 2,69% no teor de SS a partir do 6º dia de armazenamento. Enquanto, Silva et al. (2012) relataram que frutos imaturos da variedade Apodi apresentavam teor médio de 7,05 °Brix.



**Figura 6:** Conteúdo de sólidos solúveis (SS) das acerolas ‘Apodi’ verdes armazenadas embaladas e congeladas a  $-18\text{ °C}$  (FEC) por 90 dias.

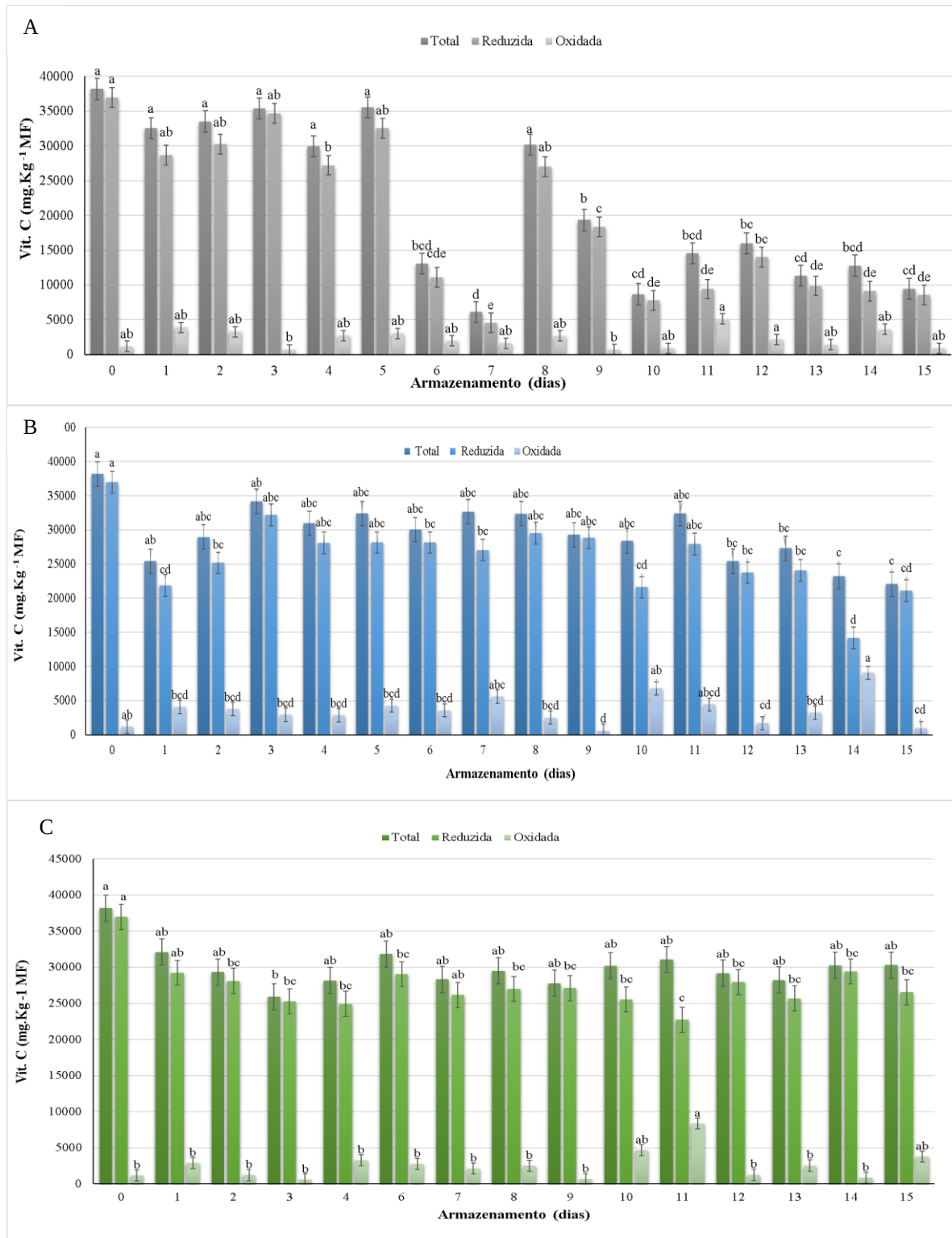
#### 4.2.2 Conteúdo de Vitamina C

O conteúdo inicial de vitamina C total dos frutos BRS 235 imaturos foi de 38.180,96 mg. Kg-1 MF, o da forma reduzida foi 36.983,88 mg. Kg-1 MF e o da forma oxidada de 1.197,07 mg. Kg-1 MF (Figura 7). No tratamento FR (Figura 6A), o conteúdo de vitamina C total decaiu 65,80% significativamente ao 6º dia atingindo 13.061,62 mg. Kg-1 MF, ao final dos 15 dias, esses frutos tinham perdido 75,20% do conteúdo de vitamina C total atingindo 9.472,51mg. Kg-1 MF. A vitamina C em sua forma reduzida teve comportamento similar ao da vitamina C total, com valores que de caíram estatisticamente a partir do 6º dia.

Enquanto a vitamina C oxidada foi sempre a forma menos abundante representando em média 10% do conteúdo de vitamina C total.

No tratamento FER (Figura 7B) o conteúdo de vitamina C total se manteve estável até do 11º dia, e partir de então, decaiu significativamente até 44,25%, 22.052,79 mg. Kg-1 MF no 15º dia de armazenamento. No entanto, a forma reduzida apresentou queda significativa logo no início do armazenamento, todavia a vitamina C oxidada foi sempre a forma menos abundante representando em média 15% do conteúdo de vitamina C total.

Para o tratamento FEC (Figura 7C), o conteúdo de vitamina C foi 30.303,05 mg. Kg-1 MF representando um valor 20,63% menor, no 15º dia de armazenamento, todavia esse valor não diferiu estatisticamente do tempo zero. No entanto, a forma reduzida apresentou queda significativa de 24% no 2º dia de armazenamento, todavia a vitamina C oxidada foi sempre a forma menos abundante representando em média 9% do conteúdo de vitamina C total.

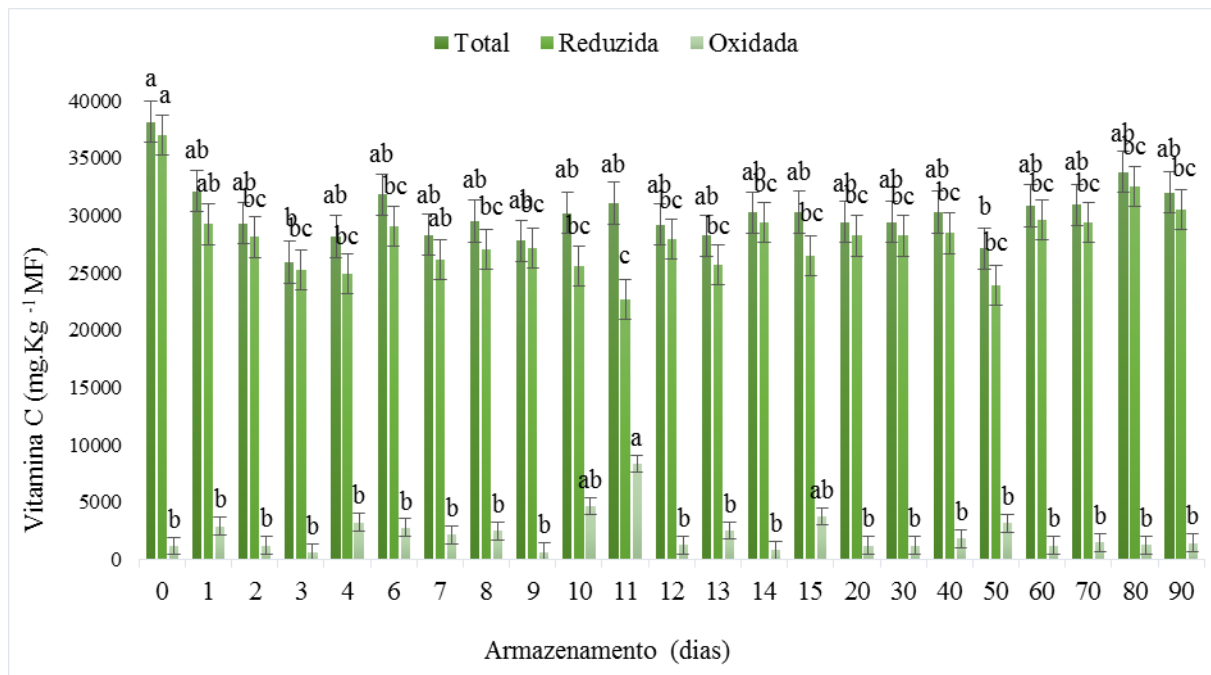


**Figura 7:** Conteúdo de vitamina C total, reduzida e oxidada das acerolas armazenadas por 15 dias sob refrigeração (FR, A), embaladas sob refrigeração (FER, B) e embaladas e congeladas (FEC, C). As variáveis seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1%.

Quando as acerolas foram submetidas ao tratamento FEC por até 90 dias (Figura 8), o conteúdo de vitamina C total se manteve estável, sem diferença significativa a ( $p \leq 0,01$ ) com 32.017,28 mg. Kg<sup>-1</sup> MF com perda de apenas 16,14% em comparação ao tempo zero. O conteúdo de vitamina C reduzida se manteve estável após o 2º dia quando atingiu 28.117,06 mg. Kg<sup>-1</sup> MF e a forma oxidada representou em média 10% do conteúdo de vitamina C total.

A associação de embalagens com baixas temperaturas de armazenamento utilizados nos tratamentos FER e FEC auxiliaram na preservação do conteúdo de vitamina C em comparação aos frutos apenas refrigerados (FR) devido à redução na velocidade das reações químicas e enzimáticas pela modificação da atmosfera no interior da embalagem, retardando o amadurecimento (VENDRAMINI; TRUGO, 2000; NETO et al. 2014). Maciel et al. (2008) analisaram frutos maduros de 16 variedades de acerolas mantidos a 8 °C, e observaram que dentre estes, sete genótipos apresentaram um aumento da vida útil, entretanto, estes também apresentavam características físico-químicas indesejáveis para o consumo in natura. Freire et al. (2013) armazenaram frutos maduros e polpa de acerolas congelados a -18° C por 90 dias observaram uma redução não significativa nos valores de vitamina C, entretanto, a polpa apresentou uma maior queda de 46,62%. A integridade da parede celular auxilia na redução da atuação de fatores externos que resultam em oxidação irreversível da vitamina C (PHILLIPS et al, 2016).

Souza et al. (2014) relataram que o conteúdo de vitamina C reduziu em 40% durante o amadurecimento de acerolas, como aqui observado. Vendramini e Trugo (2000) analisaram o conteúdo de ácido ascórbico em acerolas em três estádios de desenvolvimento dos frutos e relataram que com o amadurecimento havia uma redução de 50,36% da sua concentração. Corrêa et al. (2017) também observaram uma redução de 47,26% conteúdo de ácido ascórbico ao comparar frutos maduros e imaturos, indicando o uso de fruto imaturos para a extração de vitamina C e justificaram isso como resultado de menor atividade da enzima de degradação ascorbato oxidase. Estevam et al. (2018) estudaram cinco variedades de acerolas nos estádios imaturo e maduro e verificaram que em frutos imaturos, o conteúdo de vitamina C sempre é mais alto independentemente da variedade estudada. Já, Oliveira et al (2012) armazenaram polpa de acerolas maduras de diferentes variedades e observaram os melhores resultados de preservação da vitamina C até 180 dias.



**Figura 8:** Conteúdo de vitamina C total, reduzida e oxidada de acerolas ‘Apodi’ armazenadas por 90 dias embaladas e congeladas a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  (FEC). As variáveis seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1%

## 5 CONCLUSÃO

### 5.1 Experimento 1: Monitoramento da extração de vitamina C empregando modelos de calibração multivariados por espectroscopia NIR

Os resultados demonstraram que as etapas de processamento industrial de acerola para extração de vitamina C possuem similaridades estatísticas com 95% de confiança. Porém, três etapas se destacam no processo, a inicial (EAE), uma intermediária durante a decantação (DEC) e a final concentrada (EBATCH) e o uso de espectroscopia NIR associada às ferramentas quimiométricas apresentou bons resultados na previsão do conteúdo de vitamina C nessas etapas com erros relativos menores que 5%. Os resultados do desenvolvimento de modelos de previsão empregando espectroscopia NIR para quantificar vitamina C extraída a partir de acerola, os quais podem ser empregados pela indústria para desenvolver um sistema de controle rápido e eficaz da qualidade durante a produção do extrato concentrado, com menor tempo de preparo de amostra, sem geração de resíduos, ambientalmente favorável e baixo custo de análise. As indústrias que adquirem o NIR e construírem curvas de calibração e,

validação adequadas ao produto, tem um gasto inicial elevado. Mas o equipamento permite que as análises sejam realizadas em 1 a 2 min, facilitando o monitoramento constante da linha de produção.

## 5.2 Experimento 2: Monitoramento do conteúdo de vitamina C em acerolas ‘Apodi’ imaturas sob diferentes condições de armazenamento

Quanto ao armazenamento de acerolas íntegras imaturas visando a extração de vitamina C, concluímos que a refrigeração a 4 °C (FR) permite sua conservação sem redução significativa por até 5 dias, porém quando os frutos nessa temperatura são embalados (FER), há um aumento da preservação em até 10 dias. Todavia, o tratamento dos frutos embalados e congelados a -18 °C (FEC) pode ser indicado para o armazenamento até por um período mais longo de 90 dias com a conservação do conteúdo de vitamina C e de SS.

## REFERÊNCIAS

- AADIL, R. M.; ROOBAB, U.; KHAN, K.; RAHMAN, U. Effect of Storage on Fruit Bioactives. **Encyclopedia of Food Chemistry** [s.l], p. 83-91, 2019.
- ABE-MATSOMOTO, L. T.; SAMPAIO, G. R.; BASTOS, D. H. M. Do the labels of vitamin A, C, and E supplements reflect actual vitamin content in commercial supplements? **Journal of Food Composition and Analysis**, [s.l], v.72, p. 141-149, 2018.
- ALAMAR, P. D.; CARAMÊS, E. T.; POPPI, R. J.; PALLONE, J. A. Quality evaluation of frozen guava and yellow passion fruit pulps by NIR spectroscopy and chemometrics. **Food Research International**, [s.l], v. 85, p. 209–214, 2016.
- ALMEIDA, J. C.; ALMEIDA, P. P.; GHERARDI, S. R. M. Potencial uso dos frutos da aceroleira (*Malpighia emarginata*) para produção de licores. **Multi-Science Journal**, E.U.A, v. 2, n. 1, p 7-11. 2019.
- ALVES, D. G.; BARBOSA, J. L. JR; ANTONIO, G. C.; MURR, F. E. X. Osmotic dehydration of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.). **Journal of Food Engineering**. v. 68, n. 1, p. 99-103, 2005.
- ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; RUFINO, M. S. M.; SAMPAIO, C. G. Antioxidant activity measurement in tropical fruits: A case study with acerola. **Acta Hort**, Brasil, 773, 299–305. 2008.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – **ASTM. E1655-05**: Standard practices for infrared multivariate quantitative analysis. West Conshohocken, 2012.
- AMODIO, M. L.; CEGLIE, F.; CHAUDHRY, M. M. A.; PIAZZOLLA, F.; COLELLI, G. Potential of NIR spectroscopy for predicting internal quality and discriminating among strawberry fruits from different production systems. **Postharvest Biology and Technology**, EUA, v. 125, n. 125, p. 112–121, 2017.
- ARAÚJO, P. G. L.; FIGUEIREDO, R. W.; ALVES, R. E.; MAIA, G. A.; PAIVA, J. R.  $\beta$ -caroteno, ácido ascórbico e antocianinas totais em polpa de frutos de aceroleira conservada por congelamento durante 12 meses. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Brasil, v. 27(1), 104-107. 2007.
- ARENDSE, E.; FAWOLE, O. A.; MAGWAZA, L. S.; NIEUWOUDT, H. H.; OPARA, U. L. Development of calibration models for the evaluation of pomegranate aril quality by Fourier-transform near infrared spectroscopy. **Biosystems Engineering**, EUA, v. 159, p. 22–32, 2017.
- ARENDSE, E.; FAWOLE, O. A.; MAGWAZA, L. S.; NIEUWOUDT, H.; OPARA, U. L. Fourier transform near infrared diffuse reflectance spectroscopy and two spectral acquisition modes for evaluation of external and internal quality of intact pomegranate fruit. **Postharvest Biology and Technology**, EUA, v. 138, p. 91–98, 2018.
- ARYA, S. P; MAHAJAN, M; JAIN, P. Non-spectrophotometric methods for the determination of Vitamin C. Review. **Analytica Chimica Acta**, EUA, v. 417.p. 1–14. 2000.
- ASHOR, A. W.; BROWN, R.; KEENAN, P. D.; WILLIS, N. D.; SIERVO, M.; MATHERS, J.



C. Limited evidence for a beneficial effect of vitamin C supplementation on biomarkers of cardiovascular diseases: An umbrella review of systematic reviews and meta-Analyses. **Nutrition Research**, EUA, v. 61, p. 1–12, 2018.

BATAGLION, G. A.; SILVA, F. M. A.; EBERLIN, M. N.; KOOLEN, H. H. F. Determination of the phenolic composition from Brazilian tropical fruits by UHPLC – MS/MS. **Food Chemistry**, EUA, 180, 280–287. 2015.

BATISTA, M. S.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M. Parâmetros físico-químicos da acerola (*Malpighia puniceifolia*, L.) em diferentes fases de maturação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Brasil, v. 2, n. 2, p. 19-24, 2000.

BELWAL, T.; DEVKOTA, H. P.; HASSAN, H. A.; AHLUWALIA, S.; RAMADAN, M. F.; MOCAN, A.; ATANASOV, A. G. Phytopharmacology of Acerola (*Malpighia* spp.) and its potential as functional food. **Trends in Food Science and Technology**, [s.l], v. 74, p. 99–106, 2018.

BEZERRA, A.S.; LEITE, J. L.N.; SILVA, K. R.; OLIVEIRA, I. V.; MELLO, A. H. Produção de mudas de acerola (*Malpighia emarginata* D.C) pelo método de enxertia em topo por garfagem em fenda cheia. **Agroecossistemas**, Brasil, v. 9, n. 1, p. 251 – 260, 2017.

BORTOLOTTI, C. T.; SANTOS, K. G.; FRANCISQUETTI, M. C. C.; DUARTE, C. R.; BARROZO, M. A. S. Hydrodynamic study of a mixture of west Indian cherry residue and soybean grains in a spouted bed. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, Canada, v. 91, p. 1871–1880, 2013.

CALGARO, M.; BRAGA, M. B. **A cultura da acerola**. - 3. ed. rev. ampl. - Brasília, DF:Embrapa, p. 144, 2012.

CARAMÊS, E. T.; ALAMAR, P. D.; POPPI, R. J.; PALLONE, J. A. L. Quality control of cashew apple and guava nectar by near infrared spectroscopy. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s.l], n. 56, p. 41–46, 2017.

CARRINGTON, C. M. S.; KING, R. A. G. Fruit development and ripening in Barbados cherry (*Malpighia emarginata* DC). **Scientia Horticulturae**, Amsterdã, v.92, n.1, p.1-7, 2002.

CASALE, M.; BAGNASCO, L.; ZOTTI, M.; DI PIAZZA, S.; SITTA, N.; OLIVERI, P. A NIR Spectroscopy-based efficient approach to detect fraudulent additions within mixtures of dried porcini mushrooms, **Talanta**, Lodon, v. 160. p. 729–734, 2016.

CHEN, J.; WANG, X. Experimental instruction of plant physiology. **South China University of Technology Press**, Guangzhou, p. 124, 2000.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2. ed. Lavras: UFLA, p. 785. 2005.

CORRÊA, C. V.; GOUVEIA, A. M. S.; MARTINS, B. N.M.; JORGE, L. G.; LANNA, N. B. L.; TAVARES, A. E. B.; MENDONÇA, V. Z.; EVANGELISTA, R. M. Influence of ripening stages on physicochemical characteristics of acerola fruits. **Revista de Ciências Agrárias**, Brasil, v. 40(4), p. 808-813. 2017.

CRISOSTO, C. H.; MITCHELL, F. G.; JU, Z. Susceptibility to chilling injury of peach, nectarine, and plum cultivars grown in California. **Hort Science**, Alexandria, v. 34, p. 1116-1118, 1999.

CRUZ, R. G.; BENEY, L.; GERVAIS, P.; LIRA, S. P.; DE SOUZA VIEIRA, T. M. F.; DUPONT, S. Comparison of the antioxidant property of acerola extracts with synthetic antioxidants using an in vivo method with yeasts. **Food Chemistry**, [s.l.] v. 277, p. 698-705. 2019.

DANIELI, F.; COSTA, L. R. L. G.; HARA, A. S. S.; SILVA, A. A. Determinação de vitamina C em amostras de suco de laranja in natura e amostras comerciais de suco de laranja pasteurizado e envasado em embalagem Tetra Pak. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**, Brasil, v.27, n.4, p.361-365, 2009.

DELVA, L.; SCHNEIDER, R.G. Acerola (*Malpighia emarginata* DC): Production, Postharvest Handling, Nutrition and Biological Activity. **Food Reviews International**, Brasil, 29:107–126, 2013. DOI: 10.1080/87559129.2012.714433.

ESTEVAM, M. I. F.; SOUZA, P. A.; MARACAJÁ, P. G.; BATISTA, L. M.; REGES, B. M.; NETO, A. F.; REIS, D. S.; ALVES, E.; GONÇALVES, E.; ANJOS, F. C.; FERREIRA, M. Determinação de vitamina c e avaliação físico-química em três variedades de acerola cultivadas em Petrolina-PE. **Nucleus**, Brasil, v.11, n.1, 2014.

FANG, T.; ZHEN, Q.; LIAO, L.; OWITI, A.; ZHAO, L.; KORBAN, S. S.; HAN, Y. Variation of ascorbic acid concentration in fruits of cultivated and wild apples. **Food Chemistry**. [s.l.], v. 225. p. 132–137. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.014>.

FERNANDES, A. G.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M. D.; COSTA, J. M. C. D.; FIGUEIREDO, R. W. D.; PRADO, G. M. D. Comparação dos teores em vitamina C, carotenóides totais, antocianinas totais e fenólicos totais do suco tropical de goiaba nas diferentes etapas de produção e influência da armazenagem. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.18, n.4, p.431- 438, 2007.

FREIRE, J. M.; ABREU, C. M. P.; ROCHA, D. A. CORRÊA, A. D.; MARQUES, N. R. Quantificação de compostos fenólicos e ácido ascórbico em frutos e polpas congeladas de acerola, caju, goiaba e morango. **Ciência Rural**, Brasil, vol.43, n.12, p.2291-2295, 2013.

FREITAS, C. A. S.; MAIA, G. A.; COSTA, J. M. C.; FIGUEIREDO, R. W.; SOUSA, P. H. M. Acerola: produção, composição, aspectos nutricionais e produtos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Brasil, v. 12, n. 4, p. 395-400. 2006.

GALLEGO, R., BUENO, M., HERRERO, M. Sub-and supercritical fluid extraction of bioactive compounds from plants, food-by-products, seaweeds and microalgae—an update. **Trac Trends in Analytical Chemistry**. EUA, v. 116, p. 198-213. 2019.

GARCIA, V. A. S.; SILVA, M. R.; SEIXAS, F. A. V. Rapid analysis of vitamin C content in acerola extract by FT–NIR spectroscopy. **Revista Tecnológica**, Maringá, Brasil, v. 22, p. 13-21, 2013.

GOLIC, M.; WALSH, K. B.; LAWSON, P. Short-wavelength near infrared spectra of sucrose, glucose, and fructose with respect to sugar concentration and temperature. **Applied Spectroscopy**, Canada, v. 57, p. 139-145, 2003.

GÓMEZ, A. H.; HE, Y.; PEREIRA, A. G. Non-destructive measurement of acidity, soluble solids and firmness of Satsuma mandarin using vis-NIR spectroscopy techniques. **Journal Food Engineering**, Lodon, v. 77, p. 313–319, 2006.

HANAMURA, T.; UCHIDA, E.; AOKI, H. Skin-lightening effect of a polyphenol extract from Acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit on UV-induced pigmentation. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Japan, v. 72, n.12, p. 3211-3218. 2008.

HOSSEN, M. S.; ALI, M. Y.; JAHURUL, M. H. A.; ABDEL-DAIM, M. M.; GAN, S. H.; KHALIL, M. I. Beneficial roles of honey polyphenols against some human degenerative diseases: A review. **Pharmacological Reports**, Malaysia, v. 69, p. 1194–1205, 2017.

HU, J.; MA, X.; LIU, L.; WU, Y.; OUYANG, J. Rapid evaluation of the quality of chestnuts using near-infrared reflectance spectroscopy. **Food Chemistry**. Japan, n. 231. p. 141–147, 2017.

HUIZHAN, L.; YIBIN, Y.; HUANYU, J.; YANDE, L.; XIAPING, F.; WANG, J. Application of Fourier transform near infrared spectrometer in rapid estimation of soluble solids content of intact citrus fruits. **Journal of Zhejiang University Science**, [s.l], v. 7, p. 794–799, 2006.

IGNAT, T. et al. Non-destructive measurement of ascorbic acid content in bell peppers by VIS-NIR and SWIR spectrometry. **Postharvest Biology and Technology**, Hungary, v. 74. p. 91-99. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.06.010>.

JAESCHKE, D.P; MARCZAKA, L. D. F; MERCALI, G. D. Evaluation of non-thermal effects of electricity on ascorbic acid and carotenoid degradation in acerola pulp during ohmic heating. **Food Chemistry**. EUA, v.199, 15, p. 128-134. 2016

LAMIKANRA, O. Fresh-cut Fruits and Vegetables. **Science, Technology and Market**. 2002.

LEE, S.K.; KADER, A.A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biol. Technol.**, EUA, v. 20, p. 207-220, 2000.

LIM, Y. J.; EOM, S. H. Kiwifruit cultivar ‘Halla gold’ functional component changes during preharvest fruit maturation and postharvest storage. **Scientia Horticulturae**. Brasil, v. 234, p. 134-139, 2018.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, L. S. Avaliação da qualidade de suco de laranja industrializado. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.18, n.1, p.95-104, 2000.

LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; PRAZERES, F. G.; MUSSER, R. S.; LIMA, D. E. S. Total phenolic and carotenoid theories in acerola genotypes in three stages of maturation. **Food Chemistry**, EUA, v. 90, p. 565 – 568. 2005.

LIU, Y.; CHEN, X.; OUYANG, A. Non destructive determination of pear internal quality

indices by visible and near-infrared spectrometry. **Food Science and Technology**, Japan, v. 41, p. 1720–1725, 2008.

LOUW, E. D.; THERON, K.I. Robust prediction models for quality parameters in Japanese plums (*Prunus salicina* L.) using NIR spectroscopy. **Postharvest Biology and Technology**, South Africa, v. 58, p. 176–184, 2010.

MACIEL, M. I. S.; MÉLO, E.; LIMA, V.; SOUZA, K. A.; SILVA, W. Caracterização físico-química de frutos de genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* DC). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 4, p. 865-869, 2010.

MACIEL, M. I. S.; SILVA, W. S.; SOUZA, K. A.; MELO, E. A.; LIMA, V. L. A. G.; PEDROSA, E. M. R. Modificações pós-colheita em frutos de 16 genótipos de aceroleira armazenados sob refrigeração. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. Brasil, v.3, n.2, p.157-163, 2008.

MAGWAZA, L. S.; OPARA, U. L.; NIEUWOUTD, H.; CRONJE, P. J.; SAEYS, W.; NICOLAÏ, B. NIR spectroscopy applications for internal and external quality analysis of citrus fruit – A review. **Food Bioprocess Technol**, South Africa, v. 5, p. 425–444, 2012.

MAHAN, L. K.; SCOTT-STUMP S. Krause Alimentos: Nutrição e Dietoterapia, 11a. edição. São Paulo: ROCCA, 2005.

MAIA, G.A.; RITTER, U.G.; FIGUEIREDO, R.W. Obtenção e avaliação de bebida de baixa caloria à base de acerola (*Malpighia emarginata* D. C.). **Revista Ciência Agronômica**, Brasil, v.34, n.2, p.233-240, 2003.

MALEGORI, C.; GRASSI, S.; MARQUES, E. J. N.; DE FREITAS, S. T.; CASIRAGHI, E. Vitamin C distribution in acerola fruit by near infrared hyperspectral imaging. **Journal of spectral imaging**. [s.l], v.5. n. 1, 2016.

MALEGORI, C.; MARQUES, E. J. N.; DE FREITAS, S. T.; PIMENTEL, M. F.; PASQUINI, C.; CASIRAGHI, E. Comparing the analytical performances of Micro-NIR and FT-NIR spectrometers in the evaluation of acerola fruit quality, using PLS and SVM regression algorithms. **Talanta**, [s.l], v. 165, p. 112–116, 2017.

Market Research Future. Disponível em:

<https://www.marketresearchfuture.com/reports/acerola-extract-market-5008>. Acesso: 23 de Junho de 2020.

MARQUES, E. J. N.; FREITAS, S. T.; PIMENTEL, M. P.; PASQUINI, C. Rapid and non-destructive determination of quality parameters in the “Tommy Atkins” mango using a novel handheld near infrared spectrometer. **Food Chemistry**, [s.l], v. 197, p. 1207–1214, 2016.

MARQUES, T. R.; CORRÊA, A. D.; LINO, G. B. R.; ABREU, C. M. P.; SIMÃO, A. A. Chemical constituents and technological functional properties of acerola (*Malpighia emarginata* DC) wasteflour. **Food Science Technology**, Amsterdã, v. 33, n. 3, p. 526-531, 2013.

MAZARO, S. M.; BORSATTI, F. C.; DALACOSTA, N.; LEWANDOWSKI, A.; DANNER,

M. A.; BUSSO, C.; WAGNER, A. J. Qualidade pós-colheita de acerolas tratadas com ácido salicílico. **Agrária**, Brasil, v.10, n.4, p.512-517, 2015

MDITSHWA, A. A.; MAGWAZA, S. L.; TESHAY, S. Z.; OPARA, U. L. Postharvest factors affecting vitamin C content of citrus fruits: A review. **Scientia Horticulturae**. Brasil, v. 218. n. 14. p. 95-104. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.024>.

MEZADRI, T.; VILLANO, D.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S.; GARCÍA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s.l], v. 21, n. 4, p. 282-290. 2008.

MORAES, F. P. D.; COSTA, R. C.; MORAIS, C. D. L. M. D.; MEDEIROS, F. G. M. D.; FERNANDES, T. R. N.; HOSKIN, R. T.; LIMA, K. M. G. D. Estimation of ascorbic acid in intact acerola (*Malpighia emarginata* DC) Fruit by NIRS and Chemometric Analysis. **Horticulturae**, Brasil, v. 5, n. 1, p. 12, 2019.

MOURA, C. F. H.; ALVES, R. E.; DE FIGUEIREDO, R. W.; DE PAIVA, J. R. Avaliações físicas e físico-químicas de frutos de clones de aceroleira (*Malpighia emarginata* DC). **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 38, n. 1, p.52-57, 2007.

NASSER, F. A. C. M.; NASSER, M. D.; FURLANETO, K. A.; RAMOS, J. A.; VIEITES, R. L.; PAGLIARINI, M. K. Bioactive compounds in different acerola fruit cultivares. **Semina: Ciências Agrárias**, Brasil, v. 38, n. 4, p. 2505-2514, 2017.

NETO, A. F.; REIS, D. S.; ALVES, E.; GONÇALVES, E.; ANJOS, F.C.; FERREIRA, M. Determinação de vitamina c e avaliação físico-química em três variedades de acerola cultivadas em Petrolina-pe. **Nucleus**, Brasil, v.11, n.1, 2014.

NETO, A. F.; REIS, D. S.; ALVES, E.; GONÇALVES, E.; ANJOS, F.C.; FERREIRA, M. Determinação de vitamina c e avaliação físico-química em três variedades de acerola cultivadas em Petrolina-pe. **Nucleus**, Brasil, v.11, n.1, 2014.

NING-PFAUE, H. B. Analysis of water in food by near infrared spectroscopy. **Food Chemistry**. [s.l], v. 82. p. 107–115, 2003.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A.; SILVA JUNIOR, J. F. Efeito do estágio de maturação dos frutos nas características físico-químicas de acerola. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasil, v. 37, n. 4, p. 463-470, 2002.

OLIVEIRA, L. S.; RUFINO, M. S.; MOURA, C. F.; CAVALCANTI, F. R.; ALVES, R. E.; MIRANDA, M. R. The influence of processing and long-term storage on the antioxidant metabolism of acerola (*Malpighia emarginata*) purée. **Braz. J. Plant Physiol.**, Brasil, v. 23(2): 151-160, 2011.

OLIVEIRA, L.S.; MOURA, C.F.H.; BRITO, E.S.; FERNANDES, F.A.N.; MIRANDA, M.R.A. Quality changes and anthocyanin and vitamin C decay rates of frozen acerola purée during long-term storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s.l], p. 09; 2012.

PHILLIPS, K. M.; TARRAGÓ-TRANI, M. T.; GEBHARDT, S. E.; EXLER, J.; PATTERSON,

K. Y.; HAYTOWITZ, D. B. Stability of vitamin C in frozen raw fruit and vegetable homogenates. **Journal of Food Composition and Analysis**, EUA, v. 23, 243–259. 2016.

PLAZA, L.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; ELEZ-MARTÍNEZ, P.; DE ANCOS, B.; MARTÍN-BELLOSO, O.; CANO, M. P. 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**, Munique, v.226, p.487-493, 2006.

PONTES, A. T. A. C.; SOARES, F. A. X.; LIMA, F. W. M.; DINIZ, C. V. Uso do ciclo fenológico da aceroleira para padronização do ponto de colheita mecanizada. **CONBEA**, 2015.

PONTES, A. T. C.; SOARES, F. A. X.; LIMA, F. W. M.; DINIZ, C. V. Uso do ciclo fenológico da aceroleira para padronização do ponto de colheita mecanizada. **XLIV Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola - CONBEA 2015**.

RAMADÃ, L.; DUARTE, C. R.; BARROZO, M. A. S. A new hybrid system for reuse of agro-industrial wastes of acerola: Dehydration and fluid dynamic analysis. **Waste and Biomass Valorization**, Canada, p.1–11, 2018.

REIS, D. S.; NETO, A. F.; DE SOUZA COSTA, J. D.; ALMEIDA, F. D. A. C.; GOUVEIA, J. P. G. Desorption isotherms of acerola fruits variety 'Okinawa'. **Científica**, Jaboticabal, v.45, n.2, p.130-136, 2017. <http://dx.doi.org/10.15361/1984-5529.2017v45n2p130-136>.

REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. **Food Chemistry**. Canada, v. 254, p. 281-291, 2018.

RIGHETTO, A.M.; NETTO, F.M.; CARRARO, F. Chemical composition and antioxidant activity of juices from mature and immature acerola (*Malpighia emarginata* DC). **Food Science and Technology International**, [s.l], v. 11, n. 4, p. 315-321, 2005.

RINNAN, A.; VAN DEN BERG, F.; ENGELSEN, S. B. Review of the most common pre-processing techniques for near-infrared spectra. **Trends in Analytical Chemistry**, [s.l], v. 28, No. 10, 2009.

RITZINGER, R.; RITZINGER, C. H. S. P. Cultivo tropical de fruteiras: acerola. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 32, n. 264, p. 17-25, 2011.

SALGUERO-CHAPARRO, L.; BAETEN, V.; ABBAS, O.; PEÑA-RODRÍGUEZ, F. On-line analysis of intact olive fruits by vis–NIR spectroscopy: Optimisation of the acquisition parameters. **Journal of Food Engineering**, [s.l], v. 112, p. 152–157. 2012.

SANTOS, N.S.; SILVA, J. C. S.; ARAUJO, C. A.; LIMA, K. F.; SILVA, F. G. A. Caracterização da conservação refrigerada da acerola (*Malpighia emarginata*) sob atmosfera modificada. **Diversitas Journal**. Espanha, vol. 5, n. 1, p.12-19. 2020

SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas.  
<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-da->

acerola,db7b9e665b182410VgnVCM100000b272010aRCRD. Acesso em: 06 de maio de 2018.

SILVA P. B.; DUARTE, C. R.; BARROZO, M. A. S. Dehydration of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) residue in a new designed rotary dryer: Effect of process variables on main bioactive compounds. **Food and Bioproducts Processing**, [s.l], v. 98, pp. 62-70, 2016.

SILVA, M. B.; ARAUJO, J. F.; GALVÃO, E. R.; BATISTA, F. P. R. Produção e qualidade de acerola com biofertilizantes líquidos sob cultivo biodinâmico. **Revista Ouricuri**, Brasil, v. 2, n. 2, p. 125-137, 2012.

SNYDER, A. B.; SWEENEY, C. F.; RODRIGUEZ-SAONA, L. E.; GIUSTI, M. M. Rapid authentication of concord juice concentration in a grape juice blend using Fourier-Transform infrared spectroscopy and chemometric analysis. **Food Chemistry**, [s.l], v. 147, n. 2014, p. 295–301, 2014.

SOUZA, K. O.; MOURA, C. F. H.; BRITO, E. S.; MIRANDA, M. R. A. Antioxidant compounds and total antioxidant activity in fruits of acerola from cv. flor branca, Florida Sweet and BRS 366. **Revista Brasileira Fruticultura**, Brasil, v. 36, n. 2, p. 294-304, 2014.

SPÍNOLA, V.; LLORENT-MARTÍNEZA, E. J.; CASTILHO, P. C. Determination of vitamin C in foods: Current state of method validation. **Journal of Chromatography A**, EUA, v. 1369, p. 2–17, 2014.

TIERNO, R.; LÓPEZ, A.; RIGA, P.; ARAZURI, S.; JARÉN, C.; BENEDICTO, L.; RUIZ DE GALARRETA, J. I. Phytochemicals determination and classification in purple and red-fleshed potato tubers by analytical methods and near infrared spectroscopy. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, EUA, v. 96, n. 6, p. 1888–1899, 2016.

TOLEDO-MARTÍN, E. M.; GARCÍA-GARCÍA, M. C.; FONT, R.; MORENO-ROJAS, J. M.; GÓMEZ, P.; SALINAS-NAVARRO, M.; DEL RÍO-CELESTINO, M. Application of visible/near-infrared reflectance spectroscopy for predicting internal and external quality in pepper. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, EUA, v. 96, n. 9, p. 3114–3125, 2016.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, [s.l], v. 71, n. 2, p. 195-198, 2000.

YAMASHITA, F.; BENASSI, M. T.; TONZAR, A. C.; MORIYA, S.; FERNANDES, J. G. Produtos de acerola: estudo da estabilidade de vitamina C. **Ciências Tecnologia de Alimentos**, Brasil, v. 23 (1), p. 92-94, 2003.