

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**  
**DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DE PROCESSO DE INDUSTRIALIZAÇÃO DE  
CALDO DE CANA DE AÇÚCAR (*Sacharum ssp*) POR ENCHIMENTO  
A QUENTE E SISTEMA ASSÉPTICO**

**KARIN SAMORANO DA SILVA**  
Farmacêutica Bioquímica

Orientador: Prof. Dr. **José de Assis Fonseca Faria**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos

**Campinas – SP**

2004

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

Si38a Silva, Karin Samorano da  
Avaliação de processo de industrialização de caldo de cana de açúcar  
(*Sacharum ssp*) por enchimento a quente e sistema asséptico / Karin  
Samorano da Silva. – Campinas, SP: [s.n.], 2004.

Orientador: José de Assis Fonseca Faria  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.  
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

Caldo de cana. 2.Estabilidade. 3.Enchimento à quente.  
4.Processamento asséptico. I.Faria, José de Assis Fonseca.  
II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de  
Alimentos. III.Título.

cars-fea

**BANCA EXAMINADORA**

**Prof. Dr. José de Assis Fonseca Faria**  
Universidade Estadual de Campinas  
Orientador

**Dra. Eliete Vaz Faria**  
Instituto de Tecnologia de Alimentos  
Membro da Banca

**Prof. Dr. Carlos Alberto Rodrigues Anjos**  
Universidade Estadual de Campinas  
Membro da Banca

**Prof. Dr. Gil Eduardo Serra**  
Universidade Estadual de Campinas  
Membro da Banca

*Ao Du, meus pais, irmãs, sobrinhos e  
àquele(a) que ainda virá a ser parte da  
minha família,  
Dedico.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Assis Fonseca Faria, pela orientação , apoio e incentivo ;

Aos membros da banca examinadora, Professores Doutores Eliete Vaz Faria, Carlos Alberto dos Anjos e Gil Eduardo Serra, pelas sugestões na conclusão deste trabalho;

Aos funcionários do departamento de tecnologia de Alimentos , Adauto e Eliane, às alunas da graduação Ana Lúcia e Isabel e à Carolina, pelo apoio integral durante os processamentos ;

Aos amigos Rodrigo Petrus e Laura Abreu, pelas sugestões, dicas e inúmeras trocas de experiências que tivemos durante a execução deste trabalho;

À Alice , funcionária do laboratório de Embalagens pelo apoio e ajuda;

A todos aqueles que participaram das sessões de análise sensorial do caldo de cana;

Ao Eduardo, meu marido, pelo carinho, amor , paciência e principalmente por ser meu maior incentivador;

A minha família, que mesmo longe e muitas vezes não compreendendo muito bem o meu trabalho, sempre me apoiaram;

Ao CNPq pela concessão da bolsa acadêmica.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVOS.....	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
	3.1 CANA-DE-AÇÚCAR.....	17
	3.2 CALDO DE CANA.....	19
	3.3 ATIVIDADE ENZIMÁTICA.....	23
	3.4 PROCESSAMENTO TÉRMICO.....	24
	3.4.1 ENCHIMENTO À QUENTE.....	26
	3.4.2 PROCESSAMENTO ASSÉPTICO.....	28
	3.4.3 ESTERILIZAÇÃO DO PRODUTO.....	31
	3.4.4 ESTERILIZAÇÃO DO CONJUNTO TAMPA-EMBALAGEM.....	32
	3.4.5 ÁREAS LIMPAS.....	34
	3.5 ESTABILIDADE DO PRODUTO PROCESSADO.....	35
	3.5.1 ESTERILIDADE COMERCIAL.....	35
	3.5.2 DESENVOLVIMENTO MICROBIANO.....	37
	3.5.3 TRANSFORMAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS NO CALDO DE CANA.....	38
	3.5.4 TEMPERATURA.....	38
	3.5.5 DISPONIBILIDADE DE OXIGÊNIO.....	39
	3.5.6 BARREIRA DO CONJUNTO TAMPA-EMBALAGEM.....	39
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	40
	4.1 MATERIAL.....	40
	4.1.1 CALDO DE CANA.....	40
	4.1.2 EMBALAGEM.....	40
	4.1.3 SISTEMA DE ESTERILIZAÇÃO DE EMBALAGENS.....	40
	4.1.4 ESTERILIZANTE QUÍMICO PARA EMBALAGENS.....	41
	4.1.5 MOEDOR DE CANA.....	41
	4.1.6 TROCADOR DE CALOR.....	41
	4.1.7 SALA LIMPA.....	41
	4.1.8 LINHA DE ENVASE.....	42
	4.1.9 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E ATIVIDADE ENZIMÁTICA.....	42
	4.2 MÉTODOS.....	43

4.2.1	RASPAGEM E HIGIENIZAÇÃO DAS CANAS .....	43
4.2.2	ESCOLHA DA MELHOR VARIEDADE DE CANA-DE-AÇÚCAR .....	43
4.2.3	ESTUDO DA MELHOR FORMULAÇÃO.....	43
4.2.4	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	44
4.2.5	PROCESSAMENTO.....	46
4.2.6	ESTERILIDADE COMERCIAL.....	47
4.2.7	ATIVIDADE ENZIMÁTICA .....	48
4.2.8	ANÁLISE SENSORIAL.....	49
4.2.9	EFEITO DA TEMPERATURA NO ESCURECIMENTO DO CALDO DE CANA	50
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS.....	51
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
5.1	SELEÇÃO DAS VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	52
5.1.1	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	52
5.1.2	SELEÇÃO DA VARIEDADE DE CANA-DE-AÇÚCAR A SER UTILIZADA 53	
5.2	ESTUDO DA MELHOR FORMULAÇÃO PARA O PROCESSAMENTO.....	59
5.2.1	ANÁLISE DA RESPOSTA GOSTO ÁCIDO.....	60
5.2.2	ANÁLISE DA RESPOSTA GOSTO DOCE.....	60
5.2.3	ANÁLISE DA VARIÁVEL IMPRESSÃO GLOBAL .....	62
5.3	PROCESSAMENTO TÉRMICO DO PRODUTO.....	64
5.3.1	PROCESSAMENTO ASSÉPTICO.....	64
5.3.2	ENCHIMENTO À QUENTE.....	64
5.4	ESTERILIDADE COMERCIAL.....	65
5.5	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO PRODUTO.....	67
5.6	ESTABILIDADE DO PRODUTO PROCESSADO.....	69
5.6.1	ANÁLISE SENSORIAL DURANTE ESTOCAGEM.....	69
5.6.2	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA.....	79
5.6.3	EFEITO DA TEMPERATURA DE ESTOCAGEM NO ESCURECIMENTO DO CALDO-DE-CANA.....	82
6	CONCLUSÕES .....	86
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	88

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.1 – ESQUEMA DE UM SISTEMA ASSÉPTICO.....	30
FIGURA 4.1 – FLUXOGRAMA DO PROCESSAMENTO DO CALDO-DE-CANA.....	47
FIGURA 5.1 – HISTOGRAMA DO TESTE DE ACEITAÇÃO PARA <i>APARÊNCIA</i> DO CALDO OBTIDO DAS DIFERENTES VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	55
FIGURA 5.2 – HISTOGRAMA DO TESTE DE ACEITAÇÃO PARA <i>AROMA</i> DO CALDO OBTIDO DAS DIFERENTES VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	56
FIGURA 5.3 – HISTOGRAMA DE ACEITAÇÃO DO ATRIBUTO <i>GOSTO DOCE</i> PARA AS VARIEDADES TESTADAS.....	56
FIGURA 5.4 – HISTOGRAMA DE ACEITAÇÃO DO ATRIBUTO <i>GOSTO ÁCIDO</i> PARA AS VARIEDADES TESTADAS.....	57
FIGURA 5.5 – HISTOGRAMA DE ACEITAÇÃO DO ATRIBUTO <i>SABOR</i> PARA AS VARIEDADES TESTADAS.....	57
FIGURA 5.6 – HISTOGRAMA DE ACEITAÇÃO DO ATRIBUTO <i>IMPRESSÃO GLOBAL</i> PARA AS VARIEDADES TESTADAS.....	58
FIGURA 5.7 – EFEITO DA VARIÁVEL "BRIX E DO PH NA ACEITAÇÃO SENSORIAL DO <i>GOSTO</i> <i>DOCE</i> .....	61
FIGURA 5.8 – EFEITO DO BRIX E PH NA RESPOSTA SENSORIAL <i>IMPRESSÃO GLOBAL</i> .....	62
FIGURA 5.9 – NÍVEL DE ACEITAÇÃO SENSORIAL PARA O ATRIBUTO <i>APARÊNCIA</i> PARA O LOTE 1 DO CALDO DE CANA PROCESSADO ASSEPTICAMENTE.....	72
FIGURA 5.10 – NÍVEL DE ACEITAÇÃO PARA O ATRIBUTO <i>AROMA</i> PARA O LOTE 1 DO CALDO DE CANA PROCESSADO ASSEPTICAMENTE.....	72
FIGURA 5.11 – NÍVEL DE ACEITAÇÃO PARA O ATRIBUTO <i>IMPRESSÃO GLOBAL</i> PARA O LOTE 1 DO CALDO DE CANA PROCESSADO ASSEPTICAMENTE.....	73
FIGURA 5.12 – NÍVEL DE ACEITAÇÃO PARA O ATRIBUTO <i>APARÊNCIA</i> PARA O LOTE 2 DO CALDO DE CANA PROCESSADO ASSEPTICAMENTE.....	73
FIGURA 5.13 – NÍVEL DE ACEITAÇÃO PARA O ATRIBUTO <i>AROMA</i> PARA O LOTE 2 DO CALDO DE CANA PROCESSADO ASSEPTICAMENTE.....	74
FIGURA 5.14 – NÍVEL DE ACEITAÇÃO PARA O ATRIBUTO <i>IMPRESSÃO GLOBAL</i> PARA O LOTE 2 DO CALDO DE CANA PROCESSADO ASSEPTICAMENTE.....	74

FIGURA 5.15 - NÍVEL DE ACEITAÇÃO SENSORIAL PARA O ATRIBUTO <i>APARÊNCIA</i> . LOTE ENVASADO À QUENTE. ....	76
FIGURA 5.16 – NÍVEL DE ACEITAÇÃO SENSORIAL PARA O ATRIBUTO <i>AROMA</i> . LOTE ENCHIDO À QUENTE.....	77
FIGURA 5.17 - NÍVEL DE ACEITAÇÃO SENSORIAL PARA O ATRIBUTO <i>IMPRESSÃO GLOBAL</i> . LOTE ENVASADO À QUENTE.....	78
FIGURA 5.18 – ALTERAÇÃO DA COLORAÇÃO PARA O <i>LOTE 1</i> DO CALDO-DE-CANA ENVASADO ASSEPTICAMENTE DURANTE ESTOCAGEM.....	82
FIGURA 5.19 – ALTERAÇÃO DA COLORAÇÃO PARA O <i>LOTE 2</i> DO CALDO-DE-CANA ENVASADO ASSEPTICAMENTE DURANTE A ESTÓCAGEM.....	83
FIGURA 5.20 – ALTERAÇÃO DA COLORAÇÃO PARA O CALDO-DE-CANA ENVASADO À QUENTE DURANTE ESTOCAGEM. ....	83
FIGURA 7.1 – ATIVIDADE DA ENZIMA <i>PEROXIDASE</i> NO CALDO DE CANA <i>IN NATURA</i> .....	112
FIGURA 7.2 – ATIVIDADE DA ENZIMA <i>PFO</i> NO CALDO <i>IN NATURA</i> EM FUNÇÃO DO TEMPO .....	112

## LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1 COMPOSIÇÃO MÉDIA DO CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR .....	18
TABELA 4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL PARA ESCOLHA DA MELHOR FORMULAÇÃO DO CALDO DE CANA .....	44
TABELA 5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DAS VARIEDADES DE CANA UTILIZADAS NO TESTE SENSORIAL.....	52
TABELA 5.2 MÉDIA DE ACEITAÇÃO SENSORIAL PARA AS DIFERENTES VARIEDADES EM RELAÇÃO AOS ATRIBUTOS TESTADOS.....	54
TABELA 5.3 PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO $2^2$ .....	59
TABELA 5.4 RESULTADO DO TESTE DE ESTERILIDADE COMERCIAL PARA O CALDO DE CANA PROCESSADO. ....	65
TABELA 5.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DURANTE ESTOCAGEM DO CALDO DE CANA PROCESSADO ASSEPTICAMENTE E DO CALDO <i>IN NATURA</i> . ....	67
TABELA 5.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DURANTE ESTOCAGEM DO CALDO DE CANA PROCESSADO ASSEPTICAMENTE.....	67
TABELA 5.7 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DURANTE ESTOCAGEM DO CALDO DE CANA ENVASADO À QUENTE. ....	68
TABELA 5.8 MÉDIAS DAS RESPOSTAS SENSORIAIS PARA OS ATRIBUTOS ANALISADOS NOS LOTES PROCESSADOS ASSEPTICAMENTE.....	71
TABELA 5.9 MÉDIAS DAS RESPOSTAS SENSORIAIS OS LOTES ENVASADOS À QUENTE .....	75
TABELA 5.10 ATIVIDADE ENZIMÁTICA DO CALDO <i>IN NATURA</i> E DOS LOTES PROCESSADOS. ....	79
TABELA 5.11 VARIAÇÃO TOTAL DE COR ( $\Delta E^*$ ) EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA DE ESTOCAGEM E TEMPO DE EXPOSIÇÃO.....	85

## RESUMO

Caldo de cana (*Sacharum ssp*) foi submetido a dois processamentos térmicos a fim de se obter um produto estável à temperatura ambiente, acondicionado em garrafa de vidro. Quatro variedades de cana-de-açúcar foram testadas quanto à aceitabilidade sensorial, a saber: *IAC86-2480*; *IAC 91-2195*; *RB72-454* e *SP81-3250*. A variedade *RB72-454* foi a mais aceita entre os provadores em relação à acidez, doçura e em termos globais. Através da metodologia de planejamento fatorial, procurou-se a melhor combinação entre acidez (pH) e doçura (°Brix). A maior aceitação sensorial foi na faixa de pH acima de 4,0 e °Brix acima de 15. No processamento asséptico, o caldo formulado foi submetido ao binômio 141°C/10s . No enchimento à quente, o caldo foi submetido ao binômio 110°C/10s e envasado a quente (85-95°C). Os três lotes produzidos foram submetidos aos testes de esterilidade comercial, contagem microbiológica, análises físico-químicas e análise sensorial durante estocagem a temperatura ambiente. Os lotes produzidos pelo sistema asséptico apresentaram uma estabilidade de 30 dias, de acordo com os resultados obtidos nas análises sensoriais durante este período. O lote envasado à quente apresentou estabilidade de até 60 dias, onde não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as amostras estocadas a temperatura ambiente frente às amostras controle. O sistema de envase à quente mostrou-se mais eficaz, em relação ao escurecimento do produto, quando submetido às diferentes temperaturas de estocagem e ao reduzir em 100% a atividade das enzimas peroxidase e polifenol-oxidase.

## SUMMARY

The aim of this work was to evaluate two thermal processes in order to obtain stable sugarcane (*Sacharum ssp*) juice at room temperature in glass bottles. Firstly a sensory evaluation was carried out on four sugarcane varieties: *IAC86-2480*; *IAC 91-2195*; *RB72-454* e *SP81-3250*. Sensory evaluation was done by a group of 27 panelists. According to the evaluation, the best scores were obtained from variety *RB72-454* in terms of appearance, sweetness and flavor. The experimental design methodology was applied to obtain the best combination between pH and °Brix based on the results. There was a tendency to a better sensory acceptance when the pH was > 4,0 and °Brix was > 15. Two thermal processes were applied to sterilize the juice. Firstly the juice was submitted to 141°C / 10 sec, then aseptically filled in glass bottles previously sterilized. In the second process, the juice was submitted to 110°C / 10 sec and filled into glass bottles at 85-95°C. Physical-chemical changes, microbiological counts and sensory acceptance were evaluated during its storage. The aseptically processed juice was sensorially stable for 30 days at room temperature and the hot filled juice was up to 60 days. These results indicated that the hot fill system was more adequate for sugarcane juice preservation in terms of sensory acceptance, physical-chemical changes and enzyme inactivity.

## 1 INTRODUÇÃO

A cana de açúcar (*Sacharum ssp*) é uma das gramíneas mais cultivadas nas regiões tropicais e subtropicais devido à grande contribuição socioeconômica que sua exploração representa em razão de armazenar grande quantidade de sacarose (Stupiello, 1987).

Além de produzir açúcar, álcool combustível, cachaça, servir para alimentação animal (variedades forrageiras), a cana-de-açúcar pode ainda ser utilizada para a produção de garapa ou caldo de cana, servido imediatamente após a moagem em moedores elétricos ou manuais (Braz, 2003).

De acordo com Soccol et al. (1990), o mercado de caldo de cana, é caracterizado pela venda através de ambulantes, quase sempre sem as mínimas condições higiênico-sanitárias necessárias à manipulação de alimentos. O nível de contaminação microbiológica nas amostras ultrapassou o limite máximo de 10 NMP / ml estabelecido pelo Ministério da Saúde para coliformes fecais, totais e estreptococos, sendo maiores que 11 NMP / ml para estes microrganismos.

A procura por alimentos mais seguros, livres de conservadores químicos e de fácil utilização tem aumentado muito nos últimos anos. Segundo dados do instituto de pesquisa ACNielsen, a categoria de produtos do tipo longa vida, foi a que mais cresceu nos últimos cinco anos no mercado brasileiro (Mano, 2000).

Em razão da facilidade na comercialização, há um aumento na procura, pelo mercado, de produtos estáveis à temperatura ambiente. No entanto, para se obter produtos cuja comercialização possa ser feita sem a necessidade da cadeia de frio, estes precisam receber processos de industrialização adequados para

torná-los estáveis quanto às alterações microbiológicas e enzimáticas.

O acondicionamento asséptico de alimentos pré-esterilizados tem alcançado um elevado nível de tecnologia e está ganhando cada vez mais importância. Durante as últimas décadas, um grande desenvolvimento tem ocorrido nesta área (Reuter, 1993), tornando tema de grande interesse entre os distribuidores e fabricantes de alimentos e bebidas. Tal fato se deve ao aumento da vida útil do produto sem a necessidade do uso de refrigeração, ou mesmo da adição de conservadores químicos. Conseqüentemente, haverá diminuição de custos com distribuição e estocagem, além de uma maior conveniência na comercialização do produto.

A tecnologia de salas limpas é uma alternativa recente que pode ser amplamente utilizada na indústria de alimentos em razão da crescente preocupação com o controle de contaminação na produção de alimentos. Esta tecnologia permite atender padrões rigorosamente definidos de pureza do ar, melhorando a qualidade e segurança dos alimentos (Petrus; Faria, 2003).

As embalagens utilizadas tanto para o sistema asséptico quanto para o enchimento a quente podem ser de vidro, que apresenta, dentre outras vantagens, a adequação ao processo térmico, utilizado no enchimento a quente, pois é tremo resistente. Este processo é mais simples e não requer alto investimento de equipamentos quando comparada ao sistema de acondicionamento asséptico. As embalagens plásticas apresentam muitas vantagens, dentre as quais pode-se citar: a sua leveza, maior resistência mecânica e propriedades de barreira, transparência, diversidade de formatos e facilidade de manuseio. No entanto, a

utilização deste tipo de embalagem para o enchimento à quente requer o emprego de um material plástico resistente às altas temperaturas, pois os polímeros normalmente utilizados em embalagens não são termo resistentes (Faria, 2002).

Considerando a necessidade do mercado e a demanda por parte da população por produtos mais seguros e estáveis à temperatura ambiente e sendo o caldo-de-cana um produto normalmente consumido de maneira inadequada sob o ponto de vista higiênico-sanitário, a industrialização do caldo-de-cana vem a ser uma alternativa bastante interessante para a indústria de alimentos, seja no setor de sucos ou na indústria sucro-alcooleira. Portanto, essa pesquisa teve o objetivo de verificar a eficiência de processos térmicos de industrialização do caldo de cana, com relação à qualidade sensorial e estabilidade à temperatura ambiente.

## **2 OBJETIVOS**

Os objetivos desta pesquisa foram:

- Avaliar um processo de industrialização de caldo de cana pelo enchimento à quente em garrafas de vidro;
- Avaliar um sistema asséptico piloto para caldo de cana em garrafas de vidro;
- Avaliar a qualidade do caldo de cana produzido pelos dois processos estocados à temperatura ambiente, em relação aos aspectos sensoriais, microbiológicos e físico-químicos;
- Determinar a vida-de-prateleira do caldo de cana obtido e estocado à temperatura ambiente;
- Verificar a inativação das enzimas polifenol oxidase e peroxidase em função do tratamento térmico utilizado no caldo de cana;
- Verificar o efeito da temperatura de estocagem sobre o escurecimento do caldo de cana.

### **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Cana-de-açúcar**

No Brasil, a cultura da cana-de-açúcar (*Sacharum spp*) é um importante fator socioeconômico, desde sua introdução nos primeiros séculos após o descobrimento até os dias atuais. Desde 1532 há referências de cultivo da cana e produção de açúcar no Nordeste brasileiro, especificamente no Estado de Pernambuco (então Capitania de Pernambuco), onde se implantou o primeiro centro açucareiro do Brasil. A região apresentava como vantagens o fato de possuir terra e clima favoráveis à cultura da cana, e a localização geográfica, mais próxima da Europa em relação à região de São Vicente (São Paulo), outro centro que se destacou como produtor de açúcar no Brasil Colonial (Truda, 1971; Pinto, 1965).

A agroindústria do açúcar é uma das mais importantes do mundo, ocupando a brasileira a posição privilegiada de um dos maiores produtores mundiais. Dados da União da Agroindústria Canavieira de São Paulo mostram que a safra 2002/2003 no Brasil foi de 317 milhões de toneladas de cana. Desde total, 84,7% foi produzido na região Centro-Sul do país (Unica, 2004).

A fim de se obter plantas cada vez mais resistentes às pragas e com alta produtividade, uma série de variedades foram desenvolvidas visando a obtenção de plantas com características agrônômicas especiais de produtividade, rusticidade, resistência à pragas e doenças além de características industriais como alto teor de sacarose e médio teor de fibras (Stupiello, 1987).

As variedades mais cultivadas atualmente pertencem às siglas **IAC** (Instituto Agrônomo de Campinas), **RB** (República do Brasil - Universidade Federal de São Carlos) e **SP** (Copersucar).

A cana-de-açúcar como matéria prima é atualmente caracterizada como colmos em estágio adiantado de maturação, sadios, recém cortados, normalmente despontados e livres de matéria estranha. Sua composição química é muito variável, em função das condições climáticas, das propriedades físicas, químicas e microbiologias do solo, tipo de cultivo, da variedade, do estágio de maturação e da idade, bem como de muitos outros fatores.

O caldo de cana é definido como uma solução impura e diluída de sacarose, sendo sua composição média descrita na *Tabela 3.1*

**Tabela 3.1** Composição média do caldo de cana-de-açúcar

Componentes do caldo	% do caldo	% dos sólidos solúveis totais
Água	75 a 82	
Sólidos solúveis totais	18 a 25	
<i>Acúcares (sacarose, glicose e frutose)</i>	15,5 a 24%	75 a 92
<i>Sacarose</i>		70 a 80
<i>Glicose</i>		2 a 4
<i>Frutose</i>		2 a 4
Constituintes minerais		
<i>Cálcio (CaO)</i>		0,20
<i>Magnésio (MgO)</i>		0,28
<i>Fósforo (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)</i>		0,40
Ácidos orgânicos		
<i>Ácido Cítrico</i>		0,18
<i>Ácido carboxílico</i>		1,54

Adaptado de Stupiello (1997) e Spencer (1963)

Segundo Stupiello (1997), dentre os fatores responsáveis pela qualidade da cana-de-açúcar destacam-se: o estágio de maturação, o teor de matéria estranha, o estado de conservação, a sanidade da matéria-prima.

A cana-de-açúcar no decorrer de seu ciclo atravessa dois períodos distintos com relação ao teor de sacarose. O primeiro é assinalado por um intenso crescimento vegetativo acompanhado por uma gradual formação de sacarose, enquanto que no segundo ocorre um predominante acúmulo de sacarose, devido à escassez dos principais fatores de desenvolvimento vegetativo. O processo de maturação é afetado por vários fatores naturais como a própria variedade, condições climáticas e tipo de solo. Imediatamente após o corte da cana iniciam-se os processos de deterioração, que podem ser de ordem tecnológica, fisiológica e microbiológica. Esta última é a mais importante em termos industriais, pois influenciam na fabricação de açúcar e álcool. A deterioração microbiológica da cana é decorrente da atividade microbiana iniciada após a queima e corte, resultando na formação de substâncias indesejáveis como dextranas (gomas) e ácidos orgânicos (lático e acético). O grau de deterioração é função do tempo decorrido entre o corte e o processamento da matéria-prima (Stupiello, 1997).

### **3.2 Caldo de cana**

Além da produção de açúcar, álcool e aguardente, a cana-de-açúcar é muito utilizada para a produção de garapa (caldo de cana), muito apreciada pelo consumidor brasileiro. É uma bebida energética, refrescante, não alcoólica e acima de tudo de baixo custo, se comparada com outras bebidas industrializadas.

Grande parte do caldo de cana consumido no Brasil é comercializado por vendedores ambulantes que utilizam moendas para extração distribuídos em vários pontos das grandes e pequenas cidades. A grande maioria não possui instalações compatíveis, assim como informações adequadas, que permitam a obtenção do produto em condições higiênico-sanitárias apropriadas (Soccol et al., 1990).

O caldo de cana é obtido por extração em moedores elétricos, ou manuais, coado em peneiras metálicas e servido com gelo, podendo ser consumido puro ou com suco de limão, abacaxi ou até maracujá. No entanto, nem sempre estas condições são adequadas sob o ponto de vista higiênico-sanitário, ficando o consumidor sujeito às possíveis contaminações que o produto venha trazer. Além disso, o caldo de cana extraído tem vida útil muito reduzida. Em função de sua rica composição química, é um meio adequado ao crescimento e desenvolvimento de microrganismos. Em 24 horas, mesmo sob refrigeração, já apresenta sinais de alteração de sabor e aparência (Yusof et al., 2000). A perda de qualidade do produto é principalmente devida à sua fermentação, que resulta em um produto ácido (Bhupinder et al., 1991).

Alguns trabalhos revelam grande interesse em desenvolver tecnologias que possam manter as características do caldo fresco e preservar suas características por um período prolongado, podendo assim ser comercializado sob condições higiênico-sanitárias melhores oferecendo ao consumidor um produto de melhor qualidade e com segurança.

Sivasubramanian e Pai (1994), com o objetivo de estudar diferentes formas

de tratamento térmico e sua influência na qualidade do caldo de cana, submeteram a cana a diferentes tratamentos de branqueamento a vapor e obtiveram melhores resultados com o branqueamento feito após um descascamento parcial das canas. O tratamento térmico do caldo, que mostrou melhores resultados em termos sensoriais, foi o processo *High Temperature Short Time* (HTST), em razão à sua alta taxa de transferência de calor e resfriamento, que não permitiu a formação de produtos de degradação. O branqueamento inicial garantiu uma melhor coloração do produto, verde amarelado. O descascamento parcial associado ao tratamento térmico, possivelmente inativou o complexo polifenol-oxidase, que é responsável pela oxidação dos compostos fenólicos presentes na cana, causando assim um escurecimento do caldo extraído.

Há pelo menos quatro mecanismos que podem contribuir para o escurecimento do caldo de cana durante seu processamento (Bucheli; Robinson, 1994):

- Formação de melanoidinas, provenientes da reação de Maillard, entre açúcares redutores e aminoácidos presentes na cana;
- Degradação térmica e reações de condensação de açúcares (caramelização);
- Degradação alcalina e reação de condensação de açúcares redutores;
- Reações oxidativas de compostos fenólicos.

Bucheli e Robinson (1994) estudaram a contribuição enzimática no escurecimento do caldo de cana, bem como a contribuição relativa de cada uma

das enzimas polifenol-oxidase e peroxidase. Seus resultados revelaram que o escurecimento do caldo foi menos intenso quando o caldo foi extraído à temperaturas elevadas (100°C). A atividade da enzima polifenol-oxidase diminuiu significativamente com o aumento da temperatura de extração. Já a peroxidase mostrou-se relativamente estável ao tratamento térmico. Houve apenas uma redução de 50% de sua atividade.

O caldo de cana após a extração torna-se escuro e apresenta sedimentação. Tratamentos térmicos convencionais conferem um sabor de melado ao caldo, afetando adversamente seu sabor característico. Singh et al. (2002) realizaram estudos na preservação do caldo de cana, a fim de obterem uma bebida pronta para beber, com boa aceitação sensorial. A pasteurização do caldo de cana a 70°C durante 10 minutos, seguida da adição de ácido cítrico (40mg/100ml de suco), ácido ascórbico (40mg/100ml) e 150ppm de metabissulfito de potássio, como agente conservador, conferiu ao produto acondicionado em garrafas previamente esterilizadas, estabilidade de 90 dias sob refrigeração.

Trabalhos realizados por Bhupinder et al. (1991), mostraram que o tratamento térmico (80°C / 10 minutos) seguido da adição de 140 mg/l de metabissulfito de potássio, 3% de suco de limão e 1 % de extrato de gengibre conferiu uma estabilidade de 24 semanas ao produto engarrafado e um bom índice de aceitação entre provadores.

A adição de limão e gengibre tem como objetivo, ajustar as características do produto processado às condições usuais de consumo, bem como a redução do pH a aproximadamente 4,0, para que o tratamento térmico seja o mais brando

possível, uma vez que a redução do pH dificulta o desenvolvimento microbiano (Sivasubramanian; Pai, 1994).

### **3.3 Atividade Enzimática**

O caldo de cana possui uma série de compostos coloridos como a clorofila e compostos fenólicos, cuja presença pode determinar a coloração e a aceitabilidade do produto. O caldo-de-cana tende a ter sua coloração inicial alterada após a extração e esta alteração pode estar relacionada com o escurecimento enzimático, conforme trabalhos publicados por Qudsieh et al. (2002) e Bucheli e Robinson (1994). De acordo com esses autores, a enzima polifenol-oxidase (*PFO*) é a que mais contribui para o escurecimento do caldo-de-cana. A presença de clorofila pode contribuir para a coloração esverdeada do caldo-de-cana quando fresco. A redução dos níveis de clorofila após a extração e tratamento térmico do caldo pode levar a uma mudança na cor. Segundo Qudsieh et al. (2002) o nível de clorofila diminui significativamente na cana-de-açúcar com o estágio de maturação da planta.

Segundo Bucheli e Robinson (1994), as enzimas Polifenol-oxidase e a Peroxidase (*POD*) são as responsáveis pelo escurecimento enzimático na cana-de-açúcar.

A *PFO* é uma oxiredutase que oxida compostos fenólicos (difenois) na presença de  $O_2$ . Catalisa duas reações diferentes: a hidroxilação de monofenois em o-dihidroxifenol e a oxidação do o-dihidroxifenol em quinonas, que irão resultar em compostos coloridos. A *POD* é capaz de oxidar compostos fenólicos em quinonas na presença de peróxido de hidrogênio.

De acordo com Bucheli e Robinson (1994), a *PFO* presente nos tecidos da cana-de-açúcar, apresenta alta especificidade pelo substrato ácido clorogênico. A atividade desta enzima é significativamente maior na presença do ácido clorogênico do que do catecol. Estudos indicam que a *PFO* é a enzima com maior atividade no caldo-de-cana, contribuindo significativamente para o escurecimento do mesmo. Já a *POD* mostra-se pouco ativa e, portanto pouco contribui para o escurecimento do caldo-de-cana, segundo o autor.

Estudos realizados com diferentes variedades de cana-de-açúcar mostraram uma grande variação de atividade da *PFO*, na presença de compostos fenólicos bem como no desenvolvimento da cor. Algumas variedades mostraram reduzido escurecimento enzimático como resultado de baixos níveis de substâncias fenólicas e de enzimas (Bucheli, Robinson 1994).

### **3.4 Processamento Térmico**

A aplicação do tratamento térmico tem como objetivos a inativação enzimática, diminuição da carga microbiana e destruição de bactérias patogênicas, visando a conservação do alimento. A intensidade do tratamento térmico depende principalmente do valor do pH, da composição e das características físicas dos alimentos e é o resultado da combinação de parâmetros tempo-temperatura (Baruffaldi; Oliveira 1998).

Quando comparado com outros tipos de esterilização, o tratamento térmico mostra-se mais eficiente e conveniente, pois além de destruir microrganismos o calor ainda inativa enzimas que podem causar a deterioração do alimento durante

a estocagem (Banwart, 1989).

Dentre os tratamentos térmicos mais utilizados em tecnologia de alimentos, destacam-se a pasteurização e a esterilização. O termo pasteurização refere-se, freqüentemente, a todo tratamento térmico que utiliza temperaturas abaixo de 100°C. Em muitos processos de pasteurização o alimento é aquecido em temperaturas entre 60 e 80°C por alguns segundos ou mais, dependendo da resistência térmica do microrganismo que se deseja destruir. Neste processo, alguns microrganismos são destruídos e alguns são apenas atenuados (injúria), enquanto os esporos podem ser estimulados a germinar (Banwart, 1989). Dependendo do tipo de alimento a pasteurização pode ter dois objetivos distintos. Em alguns produtos, como leite e ovos, a pasteurização visa a destruição de microrganismos patogênicos que podem ser prejudiciais à saúde do consumidor. No entanto há outros produtos em que a pasteurização visa aumentar a estabilidade do produto, sob o ponto de vista microbiológico e enzimático. É o caso do processo de pasteurização de cervejas, vinhos e sucos de frutas. Os produtos pasteurizados podem conter muitos organismos viáveis, o que limita a estocagem destes produtos quando comparada aos produtos comercialmente estéreis. Por esta razão a pasteurização é freqüentemente utilizada em associação com outros métodos de preservação, como estocagem refrigerada e redução do pH (Potter; Hotchkiss, 1995).

A esterilização é o processo pelo qual o alimento é submetido a temperaturas superiores a 100°C, por um tempo suficiente para destruir microrganismos e enzimas. O resultado é um produto comercialmente estéril,

onde a probabilidade de sobrevivência dos microrganismos é reduzida e com isso há um significativo aumento da estabilidade do alimento, que pode ser estocado em temperatura ambiente. A esterilidade comercial significa um grau de tratamento térmico no qual todos os microrganismos patogênicos e formadores de toxinas foram destruídos, bem como os microrganismos deteriorantes que teriam condições de se desenvolver nas condições de estocagem. Os alimentos comercialmente estéreis podem conter um pequeno número de microrganismos e esporos viáveis que, no entanto, não vão se desenvolver trazendo segurança à saúde do consumidor.

#### **3.4.1 Enchimento à quente**

O termo enchimento à quente refere-se ao envase do alimento previamente esterilizado ou pasteurizado, ainda quente, em embalagens devidamente limpas, mas não necessariamente estéreis sob condições higiênicas adequadas.

O produto é processado termicamente através do uso de trocadores de calor com temperaturas entre 77-93°C, por aproximadamente 30 a 60 segundos. O envase é feito entre 80-90°C, a embalagem é então fechada e pode ser agitada ou invertida por aproximadamente 1 a 3 minutos, para garantir que o produto quente atinja toda a superfície interna da embalagem (Potter; Hotchkiss, 1995).

O enchimento à quente é mais efetivo com alimentos ácidos, pois o tratamento térmico aliado ao baixo pH é bastante efetivo na redução do crescimento de microrganismos. Em alimentos onde o pH está abaixo de 4,6 as bactérias esporuladas, como as do gênero *Clostridium*, não têm como se

desenvolver e produzir toxinas. Para alimentos de baixa acidez ( $\text{pH} > 4,6$ ), o enchimento à quente não é recomendado a menos que o alimento seja estocado sob refrigeração ou possua outro meio adicional de preservação, como alta concentração de açúcares. Isto porque o calor residual do alimento não é suficiente para garantir a destruição de esporos que possam estar presentes na embalagem ou penetrar no produto no momento do envase (Lewis; Heppell, 2000; Potter; Hotchkiss, 1995).

O enchimento à quente visa também facilitar a desaeração do produto, pela diminuição da solubilidade do oxigênio, promovendo assim sua remoção (Piergiovanni, 1998).

Segundo Roland (1996), o enchimento à quente apresenta alguns inconvenientes, tais como:

- A baixa resistência térmica dos materiais plásticos, como o PET (polietileno tereftalato), que não poderiam ser usados nestes processos;
- A qualidade sensorial do produto pode ser alterada devido ao alto tempo de exposição do produto a altas temperaturas.

O uso de garrafas de PET termorresistentes seria uma alternativa para o envase à quente, não fosse o alto custo desta embalagem. Garrafas de PET resistentes ao calor apresentam um custo muito superior ao das garrafas de PET convencionais, ou mesmo de garrafas de vidro (Roland, 1996).

Geralmente, o que determina o tipo de processo a ser utilizado, além das exigências peculiares do mercado, é o tempo mínimo de prateleira necessário para a comercialização do produto. Se o produto é aceito pelo mercado

apresentando apenas algumas semanas de estabilidade, o processamento a frio pode ser feito, sem medidas rígidas de controle e comercializado sob refrigeração. No entanto, a escolha do processo de envase é feita também sob o ponto de vista econômico. Sendo assim o envase à quente em garrafas de vidro é o que se apresenta mais efetivo e por esta razão mais difundido (Grimm, 1998).

### **3.4.2 Processamento asséptico**

O processamento asséptico de alimentos é genericamente definido como um processo no qual o produto, é termicamente processado, normalmente através de um sistema contínuo, e acondicionado em uma embalagem previamente esterilizada, sob condições ambientais controladas (sala limpa), seguido do fechamento hermético em condições assépticas (*Figura 3.1*). O resultado é um produto comercialmente estéril, ou seja, livre de microrganismos capazes de se reproduzirem nas condições de estocagem e estável à temperatura ambiente (Buchner, 1993; Faria, 1993).

De acordo com Klaus (2002) as principais vantagens atribuídas ao uso de sistemas assépticos na produção de alimentos são: o aumento da vida de prateleira, a diminuição ou remoção completa de agentes conservadores, controle de processo confiável e melhoria da qualidade do produto.

O conceito de sistema asséptico surgiu no início do último século, entre 1914 e 1920. Em 1940, foi desenvolvido o processo denominado Dole-Martin, pelo Dr Martin, EUA. No entanto o sistema asséptico só teve sua grande expansão no início dos anos 80, quando o FDA aprovou o uso de peróxido de hidrogênio, como

agente esterilizante de embalagens (Buchner, 1993; Baruffaldi, Oliveira, 1998).

O processamento asséptico permite uma melhor qualidade do produto, uma vez que o tratamento térmico utilizado, seja UHT (*Ultra High Temperature*) ou HTST (*High Temperature Short Time*), permite rápido aquecimento e resfriamento, através de trocadores de calor. Outra vantagem do sistema asséptico é a possibilidade de utilização de embalagens que não podem sofrer tratamentos severos, como as embalagens plásticas (Baruffaldi, Oliveira, 1998; Buchner, 1993).

O envase asséptico em garrafas plásticas, especialmente PET, pode ser considerado uma inovação, e oferece as seguintes vantagens (Roland, 1996; Reuter, 1993):

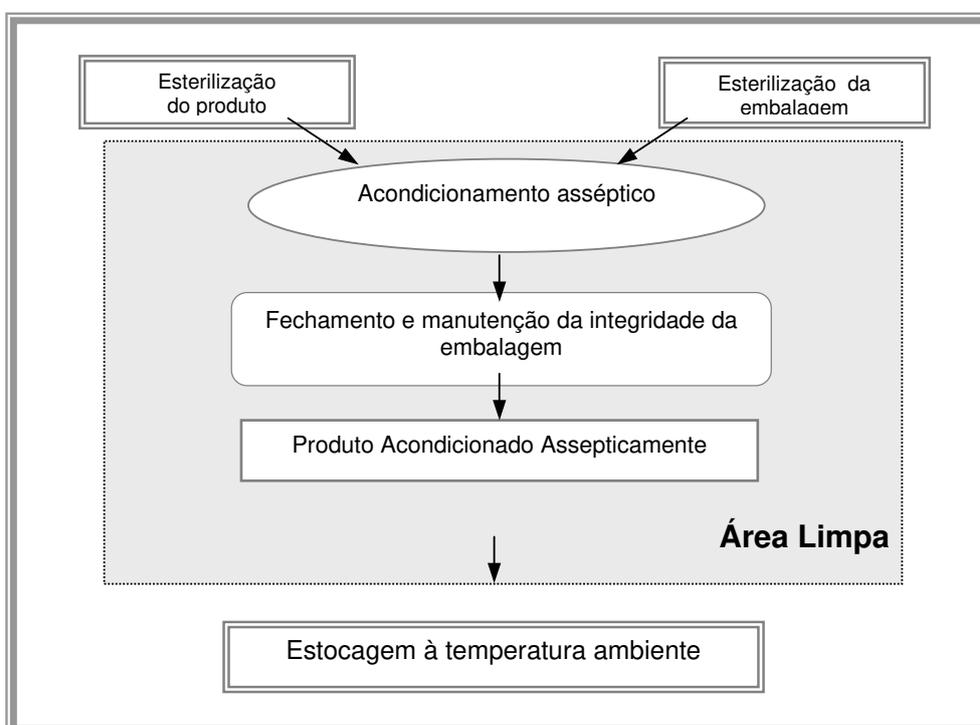
- Permite a utilização de tratamentos térmicos mais brandos, conseqüentemente melhor retenção das características sensoriais e nutricionais do produto;
- Maior estabilidade do produto, sem a necessidade de uma cadeia de frio para distribuição;
- É reciclável.

O envase asséptico em garrafas de vidro apresenta como principais vantagens (Sachs, 1993):

- A qualidade do material

- O vidro é um material nobre e transparente, o que facilita a visualização do produto;
- É reciclável;
- Apresenta barreira ao oxigênio;
- É resistente aos tratamentos térmicos de esterilização de embalagens;
- É quimicamente inerte.

- Certa preferência do consumidor pelas embalagens de vidro



**Figura 3.1** – Esquema de um sistema asséptico genérico.

### **3.4.3 Esterilização do produto**

A esterilização do produto para sistemas assépticos consiste em aquecê-lo até a temperatura adequada de processo, normalmente UHT, mantê-lo nesta temperatura pelo tempo necessário a fim de se obter o grau desejado de esterilidade, seguido de resfriamento, geralmente à temperatura ambiente. Este processo preserva ao máximo as características naturais do produto, pois utiliza altas temperaturas por um curto espaço de tempo, com resfriamento imediato.

Para se realizar a esterilização do produto a ser envasado assepticamente, pode-se utilizar processos térmicos e não térmicos. A ultrafiltração é um exemplo de processo não térmico muito utilizado para clarear produtos como vinho, cerveja e também para produtos aos quais não se pode aplicar calor, como preparações farmacêuticas (Buchner, 1993).

Entre os processos contínuos de tratamento térmico utilizados na esterilização de líquidos, destacam-se os trocadores de calor que utilizam aquecimento indireto (trocadores a placas ou tubulares) e os trocadores com aquecimento direto (injeção de vapor). Estes sistemas normalmente utilizam o vapor como meio de aquecimento e água para resfriamento.

Os sistemas mais utilizados são (Buchner, 1993; Baruffaldi, Oliveira 1998):

⇒ Trocadores de calor do tipo placas: utilizam uma superfície para a transferência de calor que mantém separado o produto do meio de aquecimento e refrigeração. Este equipamento consiste em uma série de placas de aço inoxidável dispostas lado a lado mediante juntas elásticas de borracha sintética. O produto e os meios de aquecimento e

resfriamento fluem por canais alternados dispostos através das placas. A superfície das mesmas pode ser ondulada para aumentar a superfície disponível para a transferência de calor e favorecer a turbulência. A principal vantagem deste equipamento é a economia de processo com a utilização do fluido quente para aquecer parcialmente o produto frio que entra no equipamento. A principal desvantagem é a de não poder ser utilizado para alimentos que contenham partículas, por menores que sejam.

⇒ Injeção de vapor: é o método mais rápido para aquecimento de produtos líquidos. O vapor é aplicado ao produto, que é rapidamente esterilizado e injetado em uma câmara de vácuo para que a água do vapor seja eliminada por evaporação.

A esterilização do produto destinado ao enchimento à quente segue os mesmos passos do tratamento térmico para o envase asséptico através da utilização de trocadores de calor. A diferença está no fato deste não ser resfriado, e sim envasado a temperaturas acima de 80°C.

#### **3.4.4 Esterilização do conjunto tampa-embalagem**

A eficiência e o sucesso dos sistemas assépticos dependem muito da esterilização adequada da embalagem. A esterilização da embalagem é um fator crítico no processamento asséptico, pois pode ser a causa de recontaminação do produto previamente esterilizado. A eficiência do sistema de esterilização de embalagens depende da carga microbiológica inicialmente contida na embalagem

(Abreu; Faria, 2004; Reuter, 1993).

Embora muitas embalagens sejam estéreis imediatamente após sua fabricação, em razão da natureza dos processos de transformação, elas são facilmente recontaminadas por depósitos de poeira e manuseio durante o estocagem e utilização (Joyce, 1995).

O uso de um método químico de esterilização que utiliza peróxido de hidrogênio e ácido peracético à temperatura ambiente, tem-se mostrado eficaz na esterilização de embalagens plásticas. Esta solução esterilizante tem sido amplamente utilizada em razão destas embalagens apresentarem baixa resistência térmica, (Toledo, 1975; Baldry, 1983; Reuter, 1988; Roland, 1996; Joyce, 1995).

O grupo dos perácidos, ao qual pertencem os ácidos que contêm em suas moléculas um grupo peróxido – O – O, têm sido muito utilizados com agentes sanificantes. O ácido peracético ( $H_3CCOOH$ ) apresenta efeito bactericida, fungicida e esporicida em concentrações de 1% ou menos (Joyce, 1995).

O ácido peracético apresenta um significativo efeito sinérgico quando associado ao peróxido de hidrogênio na redução de esporos de *Bacillus subtilis* na proporção de 0,04 – 0,08% de ácido peracético e 5,9 – 23,6% de peróxido de hidrogênio (Holdsworth, 1992).

Faria (1999) desenvolveu um sistema de esterilização de garrafas, onde o agente sanificante é aplicado por aspersão no interior das embalagens invertidas. O sanificante pode ser utilizado à temperatura ambiente ou aquecido (28 a 50°C), através de resistências elétricas. O agente sanificante é retirado da embalagem

também por aspersão com água estéril, aquecida ou não. Petrus (2000) e Abreu (2001), utilizaram este sistema para sanificar garrafas de PET com solução comercial de ácido peracético enriquecida com peróxido de hidrogênio (Proxitane 1512<sup>®</sup>), obtendo resultados satisfatórios quanto ao número de reduções decimais e a estabilidade dos produtos envasados nas garrafas sanificadas.

### **3.4.5 Áreas limpas**

Em conjunto com o processo de tratamento térmico do produto, da esterilização da embalagem, a eficiência do sistema asséptico depende também da qualidade do ar utilizado na sala de acondicionamento. É recomendado o uso de fluxo de ar livre de microrganismos. Uma vez que estes microrganismos são veiculados através de partículas em suspensão no ar, o controle destas partículas torna-se essencial na manutenção da qualidade do produto (Faria, 1993).

Por definição, sala limpa é aquela na qual o suprimento do ar, sua filtragem, materiais de construção e procedimentos de operação visam controlar as concentrações de partículas em suspensão no ar, atendendo aos níveis apropriados de limpeza de acordo com normas técnicas vigentes (Blois, 2002).

As partículas suspensas no ar podem apresentar tamanhos entre 0,1 e 10  $\mu\text{m}$ , e assim são capazes de carrear microrganismos aderidos a elas. Bactérias geralmente possuem tamanho entre 0,1 e 10  $\mu\text{m}$ . Somente partículas maiores que 30  $\mu\text{m}$  podem ser detectadas a olho nu. Em razão da sedimentação, partículas maiores que 10  $\mu\text{m}$  dificilmente são encontradas em suspensão na atmosfera. (Roland, 1996; Blümke, 1993).

As áreas limpas são classificadas de acordo com o número de partículas suspensas por volume de ar. Atualmente esta classificação segue a norma ISO 14644-1, de maio de 1999 (Bennet, 2002).

Petrus e Faria (2003) avaliaram as condições operacionais de uma sala limpa em planta piloto quanto à pressurização da sala de envase, taxa de recirculação de ar, contagem de partículas totais e monitoramento de partículas viáveis. Os resultados indicaram a conformidade do ambiente avaliado, satisfazendo às normas internacionais vigentes e apresentando, portanto, as condições necessárias para que seja utilizada no processamento e envase asséptico de alimentos líquidos.

### **3.5 Estabilidade do produto processado**

Por definição, estabilidade ou vida-de-prateleira é o período de tempo que corresponde, em condições definidas (temperatura e umidade relativa), a uma tolerável diminuição da qualidade de um produto alimentício acondicionado em uma embalagem (Piergiovanni,1998).

Dentre os fatores que podem afetar a qualidade de um produto processado termicamente, pode-se considerar o desenvolvimento microbiano, a temperatura de estocagem, a disponibilidade de oxigênio, bem como a característica de barreira do sistema de embalagem.

#### **3.5.1 Esterilidade comercial**

De acordo com Silva et al. (2001), esterilidade comercial de alimentos termicamente processados significa a condição atingida por aplicação de calor

suficiente para tornar o alimento isento de microrganismos capazes de se reproduzir no produto em condições de estocagem e distribuição não refrigerada e microrganismos patogênicos viáveis, inclusive esporos. O calor aplicado pode também ser combinado com redução do pH ou redução da atividade de água, suficientes para tornar o alimento isento de microrganismos capazes de se desenvolverem no produto sob as condições de estocagem não refrigerada.

A obtenção de um produto comercialmente estéril por tratamento térmico depende do pH e da atividade de água do alimento. De acordo com o pH, os alimentos podem ser genericamente classificados em: alimentos de baixa acidez ( $\text{pH} > 4,6$ ) e alimentos ácidos ( $\text{pH} < 4,6$ ).

Um alimento comercialmente estéril pode conter microrganismos sobreviventes desde que sua multiplicação seja impedida por outros fatores de preservação, como estocagem em temperaturas não superiores a  $40^{\circ}\text{C}$ , redução do pH ou redução da atividade de água. A presença dos seguintes microrganismos é considerada normal em alimentos comercialmente estéreis (Silva et al., 2001 e Dryer; Deibel, 1992):

- Esporos de bactérias termófilas estritas altamente resistentes ao calor. Não se desenvolvem em temperatura ambiente, logo sua presença é aceitável se a temperatura de estocagem não ultrapassar  $40^{\circ}\text{C}$ ;
- Esporos de bactérias termófilas e mesófilas capazes de sobreviver aos tratamentos térmicos utilizados, mas incapazes de crescer nas condições de atividade de água e pH do produto.

### 3.5.2 Desenvolvimento microbiano

O tratamento térmico visa a destruição da microflora presente nos alimentos *in natura*, bem como aquelas que contaminam o produto nas etapas anteriores ao seu processamento. Mesmo assim, sob certas condições, é possível que ocorra crescimento microbiano em produtos engarrafados, resultando na perda deste produto (Thomas, 1996).

De acordo com Faria (1990) as modificações causadas por microrganismos, em geral resultam em:

- Formação de gases e compostos voláteis;
- Produção de compostos tóxicos;
- Acúmulo de focos de microrganismos, como bolores e leveduras.

Alimentos esterilizados e acondicionados em embalagens metálicas ou de vidro somente irão sofrer deterioração por ação microbiana se a esterilização tiver sido inadequada ou ocorrerem falhas no fechamento da embalagem, que podem indicar perda de hermeticidade ou contaminação no momento do envase, no caso de produtos processados assepticamente.

Alimentos de alta acidez ( $\text{pH} < 4,5$ ) sofrem alterações microbiológicas principalmente pela ação de leveduras, fungos e algumas bactérias lácticas. As leveduras crescem mesmo em baixas concentrações de oxigênio, formando grande quantidade de gases. Por outro lado, os fungos apenas se desenvolvem quando o residual de oxigênio é maior ou quando há falhas de integridade da embalagem. (Faria, 1993).

### 3.5.3 Transformações Físico-químicas no caldo de cana

O caldo de cana contém diversos compostos que contribuem na coloração do caldo após a extração, pigmentos como a clorofila e compostos fenólicos. Uma das alterações mais importantes no caldo de cana é o escurecimento, que pode ser causado pela atividade das enzimas polifenol oxidase e peroxidase, que agem sobre os compostos fenólicos presentes no caldo. A degradação da clorofila leva a alteração da cor, que passa do verde claro para uma coloração mais amarelada. Esta alteração tem início logo após a extração do caldo. A formação de melanoidinas, por meio de reação entre aminoácidos e açúcares redutores (reação de Maillard) contribui para uma coloração marrom ao caldo (Qudsieh et al., 2002; Yusof et al., 2000).

### 3.5.4 Temperatura

A temperatura é o fator que mais afeta a estabilidade dos alimentos, pois apresenta um efeito exponencial sobre as transformações ocorridas no produto alimentício, bem como no aumento da permeabilidade da embalagem. A relação existente entre a temperatura e a velocidade das transformações ocorridas em um alimento pode ser expressa pelo valor de  $Q_{10}$ , definido como a razão entre a velocidade da reação à temperatura **(T+10°C)** e a velocidade da reação à temperatura **T**. O valor de  $Q_{10}$  representa o aumento da velocidade das reações quando a temperatura do sistema aumenta 10°C (Faria, 1993).

### **3.5.5 Disponibilidade de oxigênio**

A presença de oxigênio no espaço livre das embalagens influencia as alterações oxidativas e o crescimento microbiano. A embalagem pode atenuar as alterações provenientes da oxidação ao controlar, além do oxigênio disponível, a luz e a umidade relativa. Em uma embalagem hermética, a reação oxidativa será limitada pela presença de oxigênio residual no produto e no espaço livre. Por outro lado, se a embalagem for permeável ao oxigênio, como é o caso de algumas garrafas plásticas (PET monocamada, por exemplo), a velocidade dependerá do suprimento de oxigênio pela difusão através do conjunto tampa-embalagem (Faria, 1993; Goddard, 1997).

### **3.5.6 Barreira do conjunto tampa-embalagem**

A continuação do processo oxidativo, depois de consumido o oxigênio disponível, irá depender da permeabilidade da embalagem a este gás. Quanto menor for a barreira ao oxigênio, mais rápida será a reposição de oxigênio do ambiente externo para o interior da embalagem. Por esta razão os materiais de embalagem devem apresentar boa barreira ao oxigênio (Faria, 1993).

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 MATERIAL**

#### **4.1.1 Caldo de cana**

O caldo de cana utilizado no processamento foi extraído de canas-de-açúcar (*Sacharum ssp*) variedade RB72-454, cedidas pela Usina Açucareira Esther S.A. de Cosmópolis (SP). As variedades utilizadas para o teste preliminar de escolha da variedade, IAC86-2480, IAC91-2195, RB72-454 e SP81-3250, foram cedidas pelo Instituto Agrônomo de Campinas - Centro Avançado da Pesquisa Tecnológica do Agronegócio de Cana-de-açúcar (Apta), Ribeirão Preto, SP.

#### **4.1.2 Embalagem**

Garrafas de vidro com capacidade de 300 ml, modelo Plasti-Shield 300, com tampa metálica com diâmetro de 38 mm e fechamento do tipo “garra-torção”, adquiridas da Owens-Illinois do Brasil S. A (Cisper), São Paulo, SP.

#### **4.1.3 Sistema de esterilização de embalagens**

A esterilização das embalagens foi feita por aspersão de sanitizante utilizando um sistema de assepsia das garrafas, desenvolvido por Faria (1999) e testado por Abreu (2001,2004).

#### **4.1.4 Esterilizante químico para embalagens**

Solução comercial Proxitane 1512<sup>®</sup>, constituída de uma mistura estabilizada de ácido peracético (15%) e peróxido de hidrogênio (23%), fornecida por Peróxidos do Brasil, São Paulo - SP.

#### **4.1.5 Moedor de cana**

Foi utilizado um moedor elétrico, constituído de três cilindros de aço inoxidável, modelo B728, fabricado por Vencedora Maqtron, Joaçaba – SC (Apêndice O). Este moedor possui um raspador de cana acoplado, constituído de um rolo com escovas de aço, o qual foi utilizado para limpeza das canas.

#### **4.1.6 Trocador de calor**

O produto foi processado em um sistema de transferência de calor indireto, utilizando um trocador de calor do tipo placas, com vazão nominal de 300 l/h, fabricadas por Sumá Indústria e Comércio LTDA, Campinas - SP.

#### **4.1.7 Sala limpa**

O acondicionamento asséptico do caldo de cana foi realizado em uma sala limpa classe 7 (ISO 14644-1), certificada de acordo com as normas e padrões internacionais, incluindo pressão positiva, controle de temperatura, número de renovações de ar por hora, contagem de partículas e microrganismos em suspensão (Air Clean, 2003). A construção e certificação da sala limpa utilizada neste trabalho foram realizadas através de recursos da FAPESP (processo 99/00303-4), como parte do projeto de desenvolvimento de sistema asséptico.

De acordo com dados publicados por Petrus e Faria (2003), a sala limpa estava em conformidade com os padrões estabelecidos pela norma ISO 14644-1, conforme ilustram as Tabelas 1 e 2 (Apêndice A).

#### **4.1.8 Linha de envase**

No processo de enchimento à quente, foi utilizado um equipamento de envase semi-automático à vácuo e com fechamento manual das garrafas, fabricado por LCB Ltda, São Paulo – SP (Apêndice P).

#### **4.1.9 Análises físico-químicas e atividade enzimática**

Para a determinação do pH foi utilizado um pHmetro Digital modelo DM-20-Digimed. O teor de sólidos solúveis foi determinado com um refratômetro portátil da marca Optech, modelo RCZ, que utiliza escala de 0 a 32% e resolução de 0,2%.

A determinação da coloração do produto processado em função da temperatura de estocagem foi realizada através de espectrofotômetro para cor marca Hunter Lab, modelo Colorquest II. O sistema de calibração utilizado foi RSIN (reflectância), com sistema de cor CIElab, iluminante D<sub>65</sub> com ângulo de 10°. Para a calibração do equipamento foi utilizado o padrão branco n° C6299 data 03/96, onde X = 77,46 Y = 82,02 e Z = 88,38 e o padrão cinza n° C6299G, onde X = 47,71 Y = 50,83 e Z = 54,04. (HunterLab, 1996a)

Para a determinação da atividade enzimática foi utilizado um espectrofotômetro UV-Visível modelo LW80 do fabricante Intralab S.A, São Paulo – SP.

## **4.2 MÉTODOS**

### **4.2.1 Raspagem e higienização das canas**

Após o recebimento, as canas foram cortadas em três partes a fim de facilitar o seu manuseio. Foram raspadas e em seguida higienizadas por imersão em água clorada (200 mg/l de cloro), para eliminação de contaminantes presentes nos colmos.

### **4.2.2 Escolha da melhor variedade de cana-de-açúcar**

Os caldos obtidos das diferentes variedades de cana (*SP81-3250*, *IAC91-2195*, *IAC86-2480* e *RB72-454*), foram submetidos à avaliação de aceitação sensorial por 27 provadores não treinados e consumidores usuais de caldo de cana, os quais foram solicitados a avaliar, através de escala hedônica estruturada mista de 9 pontos, o quanto gostaram ou desgostaram de cada uma das amostras em relação aos seguintes atributos: *aparência (cor)*, *aroma*, *sabor*, *gosto doce*, *gosto ácido* e *impressão global*, de acordo com metodologia recomendada por Meilgaard; Civille, 1999 e Stone & Sidel, 1985.

### **4.2.3 Estudo da melhor formulação**

Diferentes formulações foram preparadas, com o objetivo de estabelecer a melhor combinação entre acidez (pH) e teor de sólidos solúveis totais (°Brix), em termos sensoriais. Foi realizado um planejamento fatorial do tipo  $2^2$  com 5 níveis. As variáveis independentes foram pH e °Brix. A variável dependente, ou resposta, foi a aceitação sensorial por uma equipe de 30 provadores não treinados e

consumidores usuais de caldo de cana. A faixa de pH estudada foi de 3,6 a 5,3. A variação do pH foi feita utilizando-se ácido cítrico (Singh et al., 2002). A variação de °Brix foi de 12,2 a 17,8, conforme a Tabela 4.1.

**Tabela 4.1** Delineamento experimental para escolha da melhor formulação do caldo de cana

Fator	Nível				
	- $\alpha$	-1	0	+1	+ $\alpha$
pH	3,6	4,0	4,5	5,0	5,3
°Brix	12,2	13	15	17	17,8

#### 4.2.4 Análises Físico-químicas

Todas as análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Embalagens do Departamento de Tecnologia de Alimentos FEA – Unicamp, sob temperatura controlada de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ .

As medidas de pH, acidez titulável e °Brix foram feitas antes e após o processamento do caldo de cana. As análises do caldo *in natura* foram realizadas imediatamente após a extração.

Após o processamento térmico, amostras dos três lotes produzidos foram congeladas à temperatura de  $-18^\circ\text{C}$  para posteriormente serem submetidas às análises físico-químicas. Estas amostras congeladas foram utilizadas no estudo de estabilidade (análise sensorial) do caldo de cana durante estocagem e corresponderam ao tempo zero de vida-de-prateleira. No momento das análises as amostras foram descongeladas por 24 horas a  $3^\circ\text{C}$ . As determinações físico-químicas em função do tempo de estocagem foram realizadas mensalmente

durante 90 dias para as amostras que ficaram em temperatura ambiente, sem controle de temperatura e iluminação.

A acidez titulável foi determinada utilizando-se NaOH 0,1N. O ponto de viragem foi determinado através da medida do pH, cujo valor foi  $8,1 \pm 0,02$ , conforme metodologia recomendada pela AOAC (Horwitz, 1980) para amostras coloridas.

A medida espectrofométrica da cor do produto em função da temperatura de estocagem das garrafas do caldo de cana foi realizada em espectrofotômetro descrito no item **4.1.9**. Os cálculos relativos à variação global da coloração do produto avaliado ( $\Delta E$ ) seguiram recomendações do fabricante HunterLab (1996b). Esta metodologia utiliza um sistema de coordenadas retangulares que define a cor em termos de luminosidade ( $L^*$ ), de vermelho à verde ( $a^*$ ) e de amarelo à azul ( $b^*$ ). A variação global de coloração  $\Delta E$  leva em conta as diferenças entre os valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  e é expressa por:  $\Delta E = [ (\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 ]^{1/2}$ . Foi utilizada como amostra padrão o caldo de cana congelado ( $-18^\circ\text{C}$ ) imediatamente após o processamento.

#### 4.2.5 Processamento

O produto formulado foi processado termicamente, em um trocador de calor e depois foi envasado através de dois processos: o envase asséptico (141°C / 10 seg) e o enchimento à quente (110°C / 10 seg), como mostra a Figura 4.3.

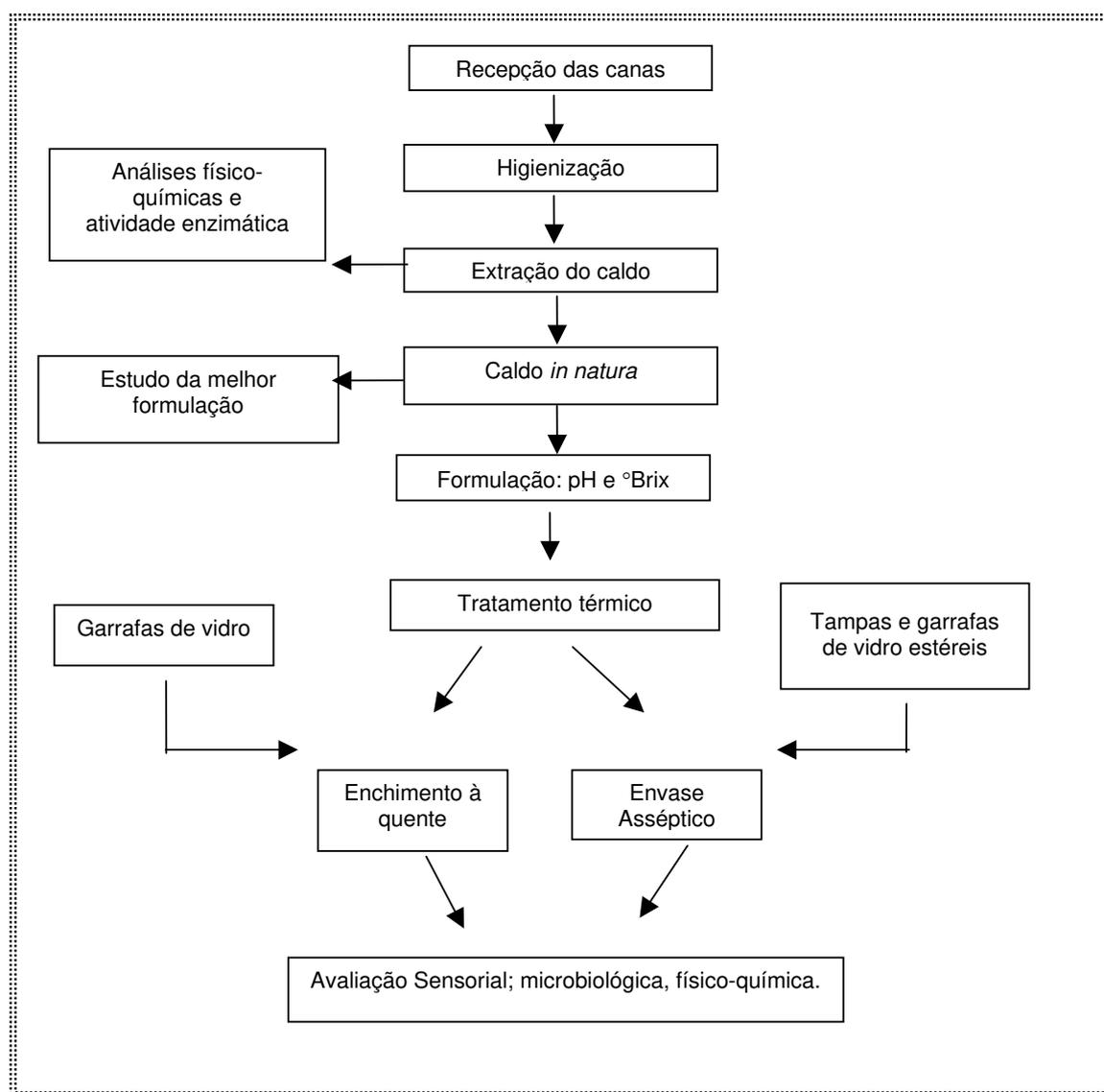


Figura 4.1 – Fluxograma do processamento do caldo de cana.

#### **4.2.5.1 Enchimento a quente**

O caldo foi termicamente processado, utilizando-se o binômio 110°C por 10 segundos (sistema UHT). Após este tratamento, o produto foi envasado a 85°C em garrafas de vidro, as quais foram hermeticamente fechadas (processo manual), invertidas por aproximadamente 3 minutos para que o calor do produto pudesse esterilizar a garrafa e a tampa e então resfriadas por imersão em água clorada.

#### **4.2.5.2 Envase asséptico**

O produto foi termicamente processado, utilizando-se o binômio 141°C por 10 segundos, resfriado a 16-18°C e envasado, manualmente, em embalagens de vidro com tampas metálicas, previamente esterilizadas, em ambiente classificado sala limpa classe (ISO 14644-1), segundo recomendações de Faria (2003).

#### **4.2.6 Esterilidade comercial**

De cada um dos três lotes produzidos, foram retiradas três garrafas, as quais permaneceram em temperatura ambiente (25-30°C) por 10 dias, conforme metodologia descrita por Dryer e Deibel (1992) e Silva et al.(2001) para alimentos ácidos (pH<4,6). Esta pré-incubação teve como objetivo verificar a ocorrência de possíveis alterações visuais, como estufamento da tampa, vazamentos e alterações de cor ou turvação. Como não foram observadas tais alterações nas amostras após a pré-incubação essas foram encaminhadas ao teste de esterilidade comercial, que visou a detecção dos seguintes microrganismos:

bactérias lácticas (incubação a 30°C por 2 a 4 dias); bolores e leveduras (incubação a 30°C por 2 a 4 dias), termófilos (incubação a 55°C por 2 a 3 dias). Essas análises foram realizadas pelo Laboratório de Microbiologia do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas -SP.

#### **4.2.7 Atividade enzimática**

A atividade enzimática foi determinada no caldo de cana *in natura* e no produto processado (envase asséptico e envase à quente). Após extração do caldo, uma amostra foi recolhida antes de ser adicionada dos demais componentes da formulação (ácido cítrico e ácido ascórbico) e congelada a -18°C para posterior análise. Amostras dos lotes processados foram da mesma forma congeladas imediatamente após o processamento para serem analisadas posteriormente. Todas as amostras foram descongeladas por 24 horas a 3°C.

A medida da atividade das enzimas polifenol-oxidase e peroxidase seguiu metodologia modificada de Campos, 1996 . A enzima peroxidase foi determinada utilizando-se guaiacol como substrato fenólico. Em um tubo de ensaio de 20 ml foram adicionados 7 ml de tampão fosfato 0,2M pH 5,5 e 1 ml da amostra. Essa mistura foi condicionada em banho a 35°C. Após estabilização da temperatura, adicionou-se 1,5 ml de guaiacol (0,5% em etanol) e 0,5 ml de peróxido de hidrogênio a 0,1%. A mistura foi homogeneizada e 3 ml foram transferidos para uma cubeta de vidro e a absorbância foi medida em espectrofotômetro a 470nm em intervalos de 1 minuto.

A atividade da enzima polifenol oxidase foi determinada utilizando-se

catecol como substrato fenólico. Em um tubo de ensaio de 20 ml foram adicionados 5,5 ml de tampão fosfato 0,2M pH 6,0 e 1,5 ml de catecol 0,2M aquoso. Essa mistura foi homogeneizada e acondicionada em banho a 25°C. Após estabilização da temperatura, foi adicionado 1 ml de amostra. A leitura da absorvância foi feita em espectrofotômetro a 425 nm em intervalos de 1 minuto.

Uma unidade de atividade foi definida como a quantidade de enzima capaz de aumentar a absorvância em 0,001 unidades por minuto. Desta forma a cada aumento de 0,001 na leitura de absorvância correspondeu a 1 unidade por minuto.

#### **4.2.8 Análise sensorial**

A avaliação sensorial foi utilizada em três etapas:

- Na escolha da variedade utilizada nos processamentos;
- Na escolha da melhor formulação em relação ao pH e quantidade de sólidos solúveis (°Brix);
- No acompanhamento das mudanças ocorridas durante a estocagem.

Em todas as etapas foi realizado um teste afetivo de aceitação, utilizando-se uma equipe de pelo menos 25 provadores, consumidores usuais de caldo de cana. Os provadores foram solicitados a avaliar o quanto gostaram ou desgostaram de cada uma das amostras, utilizando-se uma escala hedônica estruturada mista de 9 pontos. A aplicação dos testes sensoriais seguiu metodologia descrita por Stone e Sidel, 1985 e Meilgaard e Civille, 1999. Os modelos das fichas utilizadas nos testes estão ilustrados nos APÊNDICES J, L, M.

Na avaliação da estabilidade sensorial do produto processado, foram realizados testes de aceitação sensorial em função do tempo de estocagem. As análises foram realizadas em intervalos de quinze dias para cada um dos lotes produzidos. As amostras com tempo zero de estocagem foram congeladas imediatamente após o processamento a  $-18^{\circ}\text{C}$  e descongeladas por 24 horas a  $3^{\circ}\text{C}$  para serem analisadas juntamente com as amostras de caldo de cana estocadas à temperatura ambiente. Para a determinação do fim da vida de prateleira do produto, estabeleceu-se o tempo no qual mais de 50% dos provadores avaliassem a amostra com valores inferiores à 6, o que corresponde a “gostei ligeiramente” na escala hedônica utilizada (Man;Jones, 1997). As amostras, codificadas com números de três dígitos, foram apresentadas de forma monádica (uma de cada vez), seguindo delineamento de blocos completos e balanceados.

#### **4.2.9 Efeito da temperatura no escurecimento do caldo de cana**

Após o processamento, amostras dos três lotes de caldo de cana produzidos foram submetidos à estocagem em três diferentes temperaturas, em câmaras de germinação para B.O.D., fabricante Fanem, modelo 347CD, em temperaturas de 20, 30 e  $40^{\circ}\text{C}$ . As análises foram realizadas a cada 7 dias até completar 35 dias.

### **4.3 Análise estatística dos resultados**

Os resultados do delineamento experimental, relativos ao estudo da melhor formulação, foram analisados através da metodologia de Superfície de Resposta (*Response Surface Methodology*). Para a composição de modelos, bem como as respectivas superfícies de resposta, foram considerados os parâmetros estatisticamente significativos. A validade dos modelos foi avaliada em função dos respectivos coeficientes de regressão, bem como através da análise de variância (Barros Neto et al. 2001), Estas análises foram realizadas com o auxílio do programa STATISTIC<sup>®</sup>, versão 6.0.

Os resultados da análise sensorial foram estudados estatisticamente através de análise de variância (ANOVA). Para comparação entre as médias foi aplicado o teste de Tuckey.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Seleção das variedades de cana-de-açúcar

#### 5.1.1 Análises físico-químicas

Os resultados das análises de pH, °Brix e acidez titulável do caldo de cana obtido a partir das variedades estudadas estão expressos na Tabela 5.1.

**Tabela 5.1** Análises físico-químicas do caldo de cana obtido das variedades de cana utilizadas no teste sensorial

Parâmetro	Variedades de cana			
	<i>IAC86-2480</i>	<i>IAC 91-2195</i>	<i>RB72-454</i>	<i>SP81-3250</i>
pH	5,41 ± 0,02	5,36 ± 0,02	5,56 ± 0,02	5,41 ± 0,02
°Brix	17,80	18	20	20,2
Acidez titulável (mg ac. cítrico/100 ml amostra)	82	130	47	70

Os resultados mostram uma pequena variação de pH para as variedades estudadas que, no entanto, apresentam grandes diferenças em relação à acidez titulável. Há uma correlação entre o pH e a acidez titulável, quanto maior o pH menor a acidez titulável, o que é esperado. A grande variação entre os valores de acidez pode ser explicada pelo fato de os ácidos presentes na cana-de-açúcar serem ácidos orgânicos e por isso considerados ácidos fracos. Desta forma, mesmo presentes em grandes quantidades, não são suficientes para reduzir o pH do caldo-de-cana. O estágio de maturação também influencia na concentração destes ácidos. Quanto mais avançado o estágio de maturação, menor a

concentração de ácidos, conforme trabalhos publicados por Qudsieh et al. (2001, 2002).

### **5.1.2 Seleção da variedade de cana-de-açúcar**

Os resultados mostraram que houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) de aceitação entre as amostras, sendo a variedade RB72-454 a mais aceita pelos provadores em relação a todos os atributos avaliados, conforme mostrou a análise de variância (ANOVA).

Houve diferença de aceitação entre pelo menos duas amostras em relação aos atributos avaliados (*aparência, aroma, sabor, gosto doce, gosto ácido e impressão global*), ao nível de significância testado ( $p \leq 0,05$ ).

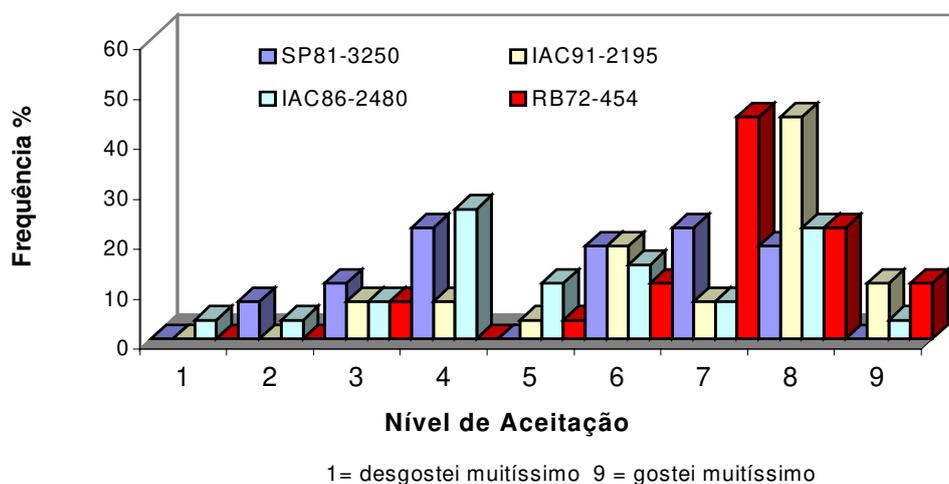
Para se verificar quais amostras foram mais aceitas, aplicou-se um teste de média de Tukey, através do qual se verificou que não houve diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as amostras *RB72-454* e *IAC91-2195* em relação aos atributos *aparência* e *aroma*, porém, houve diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre estas amostras e as demais *SP81-3250* e *IAC86-2480* quanto a estes atributos. As médias de aceitação das amostras em relação aos atributos testados estão expressas na Tabela 5.2.

**Tabela 5.2** Média de aceitação sensorial para as diferentes variedades em relação aos atributos testados

Atributos	Médias de Aceitação				MDS
	SP81-3250	IAC91-2195	IAC86-2480	RB72-454	
<i>Aparência</i>	5,52 <sup>a</sup>	6,89 <sup>b</sup>	5,44 <sup>a</sup>	6,96 <sup>b</sup>	0,54
<i>Aroma</i>	6,00 <sup>a</sup>	6,74 <sup>b</sup>	5,93 <sup>a</sup>	6,67 <sup>b</sup>	0,42
<i>Gosto doce</i>	5,70 <sup>a</sup>	6,15 <sup>a,b</sup>	4,81 <sup>c</sup>	6,74 <sup>d</sup>	0,58
<i>Gosto ácido</i>	5,37 <sup>a</sup>	5,37 <sup>a</sup>	4,48 <sup>b</sup>	6,59 <sup>c</sup>	0,56
<i>Sabor</i>	5,22 <sup>a</sup>	5,56 <sup>a,b</sup>	4,00 <sup>c</sup>	6,37 <sup>d</sup>	0,69
<i>Impressão Global</i>	5,44 <sup>a</sup>	5,63 <sup>a,b</sup>	4,52 <sup>c</sup>	6,59 <sup>d</sup>	0,59

Para cada atributo, médias seguidas de mesma letra em uma mesma linha, não diferem estatisticamente entre si ( $p \leq 0,05$ ).

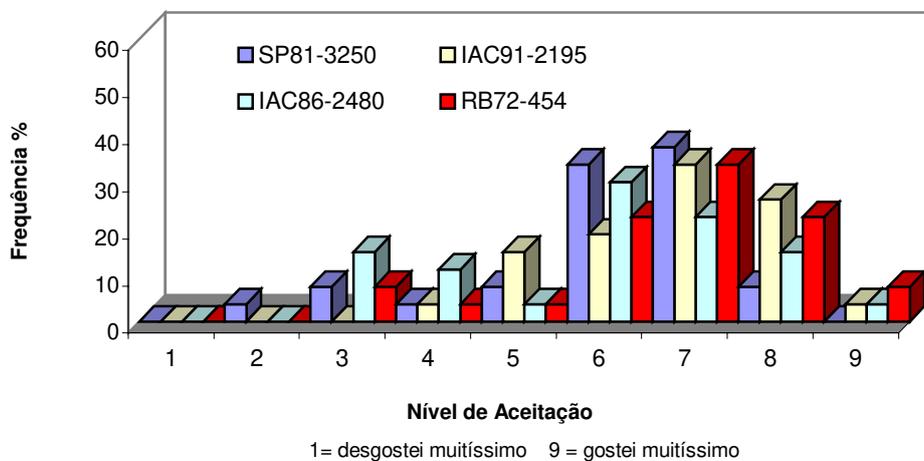
A Figura 5.1 apresenta o histograma de aceitação para o atributo *aparência* do caldo obtido das diferentes variedades.



**Figura 5.1** – Histograma do teste de aceitação para *aparência* do caldo obtido das diferentes variedades de cana-de-açúcar.

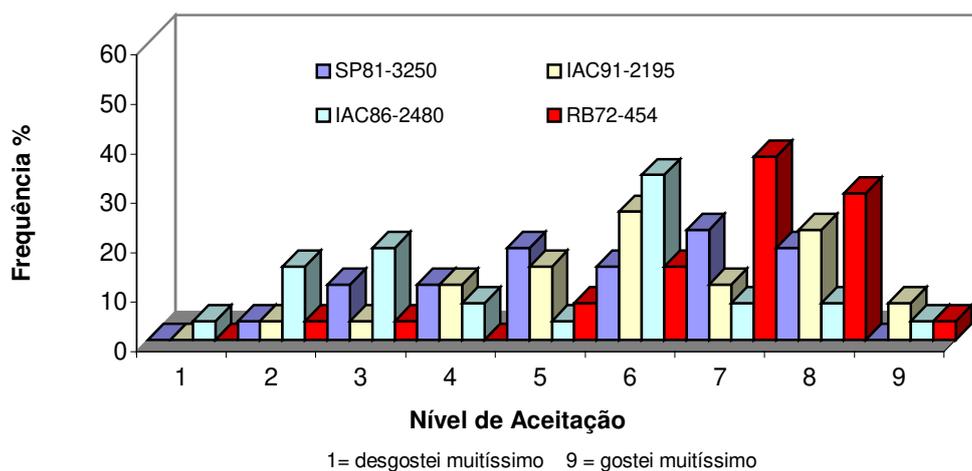
De acordo com o histograma observou-se que 77,8% dos provadores deram notas entre 7 e 9, o que corresponde a “gostei moderadamente” e “gostei muitíssimo”, para a amostra *RB72-454*. Já para a amostra *IAC91-2195*, 63% dos provadores deram notas entre 7 e 9.

A Figura 5.2 mostra a distribuição de frequência de aceitação das amostras em relação ao atributo *aroma*, onde se verifica que 63% dos provadores avaliaram a amostra *RB72-454* com notas superiores ao valor 7.

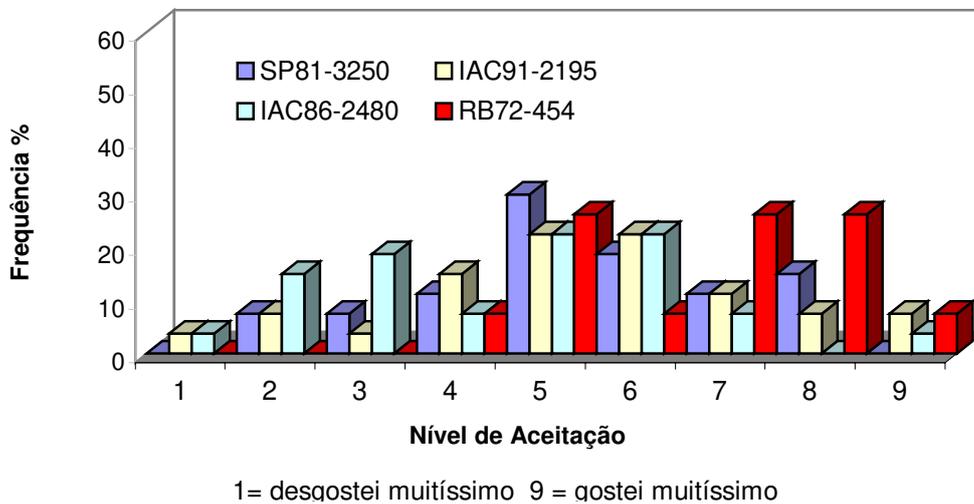


**Figura 5.2** – Histograma do teste de aceitação para *aroma* do caldo obtido das diferentes variedades de cana-de-açúcar.

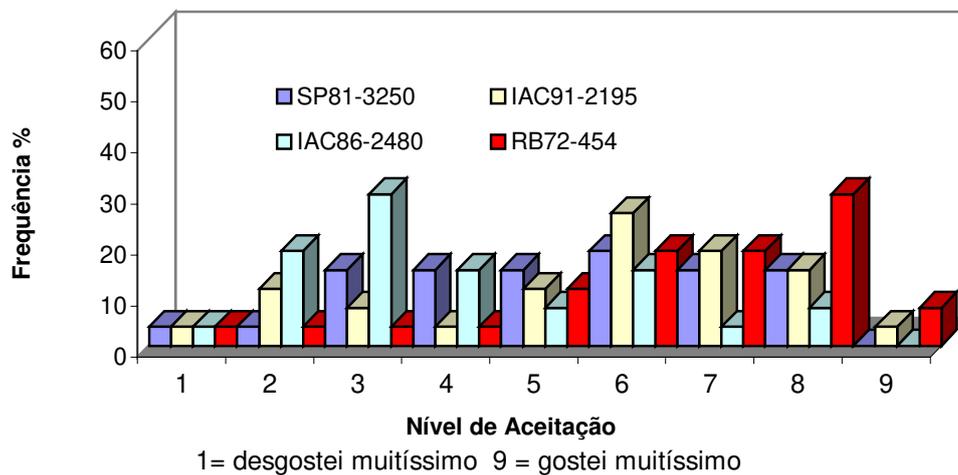
Os níveis de aceitação em relação aos atributos *gosto doce*, *gosto ácido*, *sabor* e *impressão global* estão expressos nas Figuras 5.3, 5.4, 5.5 e 5.6, respectivamente.



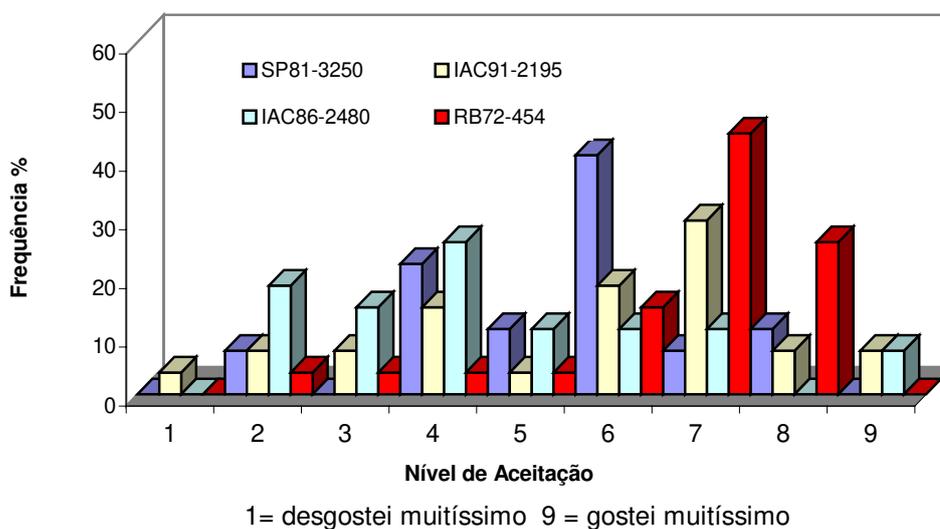
**Figura 5.3** – Histograma de aceitação do atributo *gosto doce* para as variedades testadas.



**Figura 5.4** – Histograma de aceitação do atributo *gosto ácido* para as variedades testadas.



**Figura 5.5** – Histograma de aceitação do atributo *sabor* para as variedades testadas.



**Figura 5.6** – Histograma de aceitação do atributo *impressão global* para as variedades testadas.

Os resultados mostraram que para o atributo *gosto doce*, 70,4 % dos provadores avaliaram a amostra RB72-454 com notas acima de 7, o que corresponde a “gostei moderadamente”. O mesmo resultado foi obtido no atributo *impressão global*, com aprovação de 70,4% dos provadores; em relação ao *sabor*, foi a mais aceita por 55,6% dos provadores e 59,3% aprovaram esta amostra em relação ao *gosto ácido*.

Em razão da variedade RB72-454 ter sido aprovada por no mínimo 55% dos provadores com notas acima de 7 na escala hedônica, esta foi a variedade de escolha para a utilização nos processamentos do caldo de cana.

## 5.2 Estudo da melhor formulação para o processamento

Um planejamento fatorial completo  $2^2$  foi delineado a fim de se verificar a melhor combinação entre a acidez (pH) e doçura ( $^{\circ}$ Brix) do caldo obtido da variedade RB72-454, em termos da aceitação sensorial por provadores não treinados, consumidores usuais de caldo de cana. A Tabela 5.3 mostra o delineamento do planejamento fatorial com os valores codificados e reais das variáveis independentes (pH e Brix) bem como as respectivas respostas.

**Tabela 5.3** Planejamento Fatorial completo  $2^2$  com 3 pontos centrais e 2 axiais contendo os valores codificados e reais das variáveis independentes e valores experimentais das variáveis dependentes ou respostas.

Ensaio	Variáveis independentes				Variáveis Dependentes		
	$^{\circ}$ Brix		pH		Gosto ácido	Gosto doce	Impressão global
	Cod	Real	Cod	Real	(média sensorial)		
1	-1	13	-1	4	6,5	6,6	6,1
2	+1	17	-1	4	6,4	6,4	6,4
3	-1	13	+1	5	6,9	6,3	6,2
4	+1	17	+1	5	7,6	7,0	7,1
5	0	15	0	4,5	6,5	6,7	6,4
6	0	15	0	4,5	7,5	6,7	6,6
7	0	15	0	4,5	6,8	6,6	6,6
8	-1,41	12,2	0	4,5	6,8	6,5	6,1
9	+1,41	17,8	0	4,5	7,1	6,7	6,8
10	0	15	-1,41	3,6	6,2	6,6	6,3
11	0	15	+1,41	5,3	6,6	6,5	6,5

### **5.2.1 Análise da resposta *gosto ácido***

De acordo com a análise dos coeficientes de regressão, nenhum dos parâmetros (°Brix e pH) mostrou-se significativo, ao nível de significância testado ( $p \leq 0,05$ ), portanto não foi possível obter um modelo estatístico para descrever o comportamento do parâmetro *gosto ácido*, na aceitação sensorial do produto testado.

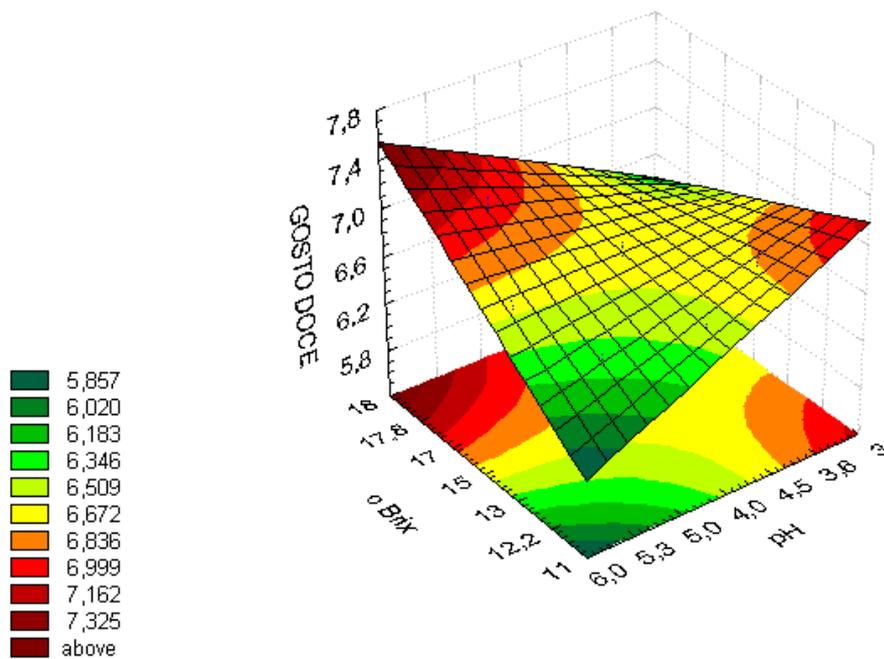
### **5.2.2 Análise da resposta *gosto doce***

Através da análise dos efeitos e respectivos coeficientes de regressão, obteve-se o seguinte modelo:

$$Y = 6,60 + 0,12B + 0,21 P$$

Onde B = °Brix ; P = pH e Y = estimativa de resposta

De acordo com a análise de variância (ANOVA) este modelo mostrou-se estatisticamente válido, pois o valor obtido de F foi maior que o valor tabelado ao nível de significância de 5% e, desta forma, gerou a superfície de resposta mostrada na Figura 5.7.



**Figura 5.7** – Efeito da variável °Brix e do pH na aceitação sensorial do *gosto doce*.

A aceitação em relação ao *gosto doce* das amostras mostrou-se maior, na medida em que o teor de açúcar (°Brix) aumentou e o pH diminuiu. No entanto quando o °Brix foi diminuído e o pH aumentado, a aceitação sensorial diminuiu. Na faixa de pH e °Brix estudadas, verificou-se um aumento da aceitação (valores acima de 6,6 na escala hedônica) quando o pH está acima de 4,0 e o °Brix acima de 15. Desta forma, pode-se dizer que há uma tendência de aumento na aceitação sensorial do produto quando este é mais doce e menos ácido.

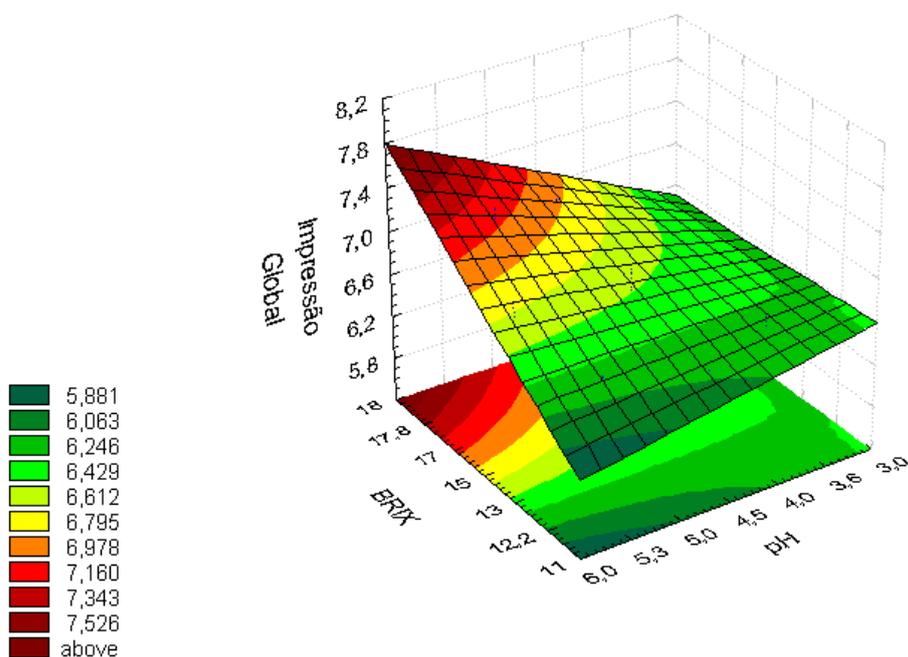
### 5.2.3 Análise da variável *impressão global*

Através da análise dos efeitos e respectivos coeficientes de regressão, obteve-se o seguinte modelo:

$$Y = 6,46 + 0,26B + 0,14P + 0,16BP$$

Onde B = °Brix e P = pH, e Y = estimativa de resposta

O modelo gerado mostrou-se estatisticamente válido ( $p \leq 0,05$ ), de acordo com a análise de variância (ANOVA) realizada. O presente modelo, gerou a superfície de resposta mostrada na Figura 5.8.



**Figura 5.8** – Efeito do Brix e pH na resposta sensorial *Impressão global*

A aceitação sensorial em termos globais mostrou-se maior na medida em que se aumentou o teor de açúcar (°Brix) e o pH. De maneira semelhante ao atributo gosto doce, a aceitação global foi maior quando o produto era mais doce e menos ácido.

De acordo com a análise da superfície de resposta do teste sensorial, a formulação mais aceita entre os consumidores seria: teor de açúcar acima de 17,8 °Brix e pH acima de 4,5. Desta forma optou-se pela formulação de um produto com o maior teor possível de açúcar. No entanto o pH escolhido para o processamento do produto foi 4,0. A escolha do pH levou em consideração parâmetros microbiológicos e sensoriais. Em um alimento ácido ( $\text{pH} < 4,5$ ) o tratamento térmico pode ser mais brando, o que contribui para que as perdas sensoriais do produto processado sejam reduzidas, sendo a acidez do produto, por si só um fator de restrição ao crescimento de algumas espécies de microrganismos (Baruffaldi; Oliveira 1998; Lewis; Heppell, 2000).

### **5.3 Processamento térmico do produto**

#### **5.3.1 Processamento asséptico**

Foram processados dois lotes de 95 litros de caldo de cana. Os lotes apresentaram as seguintes características físico-químicas: 20°Brix, pH 4,0, 200 ppm de ácido ascórbico , ácido cítrico (1,1g/l). O binômio utilizado foi 141°C por 10 seg. A temperatura no ponto de envase foi de 16 a 18°C. Foram envasadas 190 embalagens de vidro com 300 ml cada.

#### **5.3.2 Enchimento à quente**

Foram processados 50 litros de caldo de cana, com as mesmas características físico-químicas dos lotes anteriores. O binômio utilizado foi 110°C por 10 seg e a temperatura de envase foi de 85 a 95°C. Foram envasadas 100 garrafas de vidro com 300 ml cada.

#### 5.4 Esterilidade comercial

Após pré-incubação de 10 dias, 3 amostras de cada lote foram enviadas para análise de esterilidade comercial. Os resultados são mostrados na Tabela 5.4.

**Tabela 5.4** Resultado do teste de esterilidade comercial para o caldo de cana processado.

PARÂMETRO	RESULTADO		
	Envase asséptico <b>Lote 1</b>	Envase asséptico <b>Lote 2</b>	Envase a quente
Contagem de microrganismos <b>mesófilos</b> ácido tolerantes (UFC/ml*)	<1,0	<1,0	<1,0
Contagem de microrganismos <b>termófilos</b> ácido tolerantes (UFC/ml*)	<1,0	<1,0	<1,0
Contagem de bolores e leveduras (UFC/ml*)	<1,0	<1,0	<1,0
pH (inicial)	4,21	4,08	4,08
pH (35°C/10 dias)	4,28	4,14	4,15
pH (55°C/10 dias)	4,16	4,02	4,04

\* *Unidades Formadoras de Colônias por ml*

De acordo com estes resultados, os produtos que foram aprovados no teste de esterilidade comercial, não apresentaram desenvolvimento de microrganismos capazes de causar alterações no produto, sendo considerados desta forma estéreis, de acordo com o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, Resolução RDC número 12, de 02 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2001).

Embora os resultados do teste tenham confirmado a esterilidade comercial das amostras encaminhadas para análise, houve alterações visuais em algumas garrafas dos três lotes processados. Para o lote 1 envasado assepticamente, 11% das garrafas apresentou formação de gás com crescimento microbiológico, após 30 dias de estocagem.

O mesmo foi encontrado no lote 2 asséptico que apresentou 9,4% das garrafas com alterações visuais, como desenvolvimento microbiológico e formação de gás. Já o lote envasado à quente apresentou apenas 5% de garrafas com estufamento das tampas. O momento do envase e fechamento das garrafas é um ponto crítico de controle em um sistema asséptico, como neste caso o fechamento foi manual, podem ter ocorrido falhas operacionais, por parte do manipulador, como o não rosqueamento adequado das tampas metálicas nas garrafas, o que pode ter levado à contaminação do produto após envase.

## 5.5 Análises físico-químicas do produto

As Tabelas 5.5, 5.6 e 5.7 mostram os resultados obtidos das análises físico-químicas do caldo de cana *in natura* e dos três lotes processados.

**Tabela 5.5** Análises físico-químicas durante estocagem do caldo de cana processado assepticamente e do caldo *in natura*.

Parâmetro	<i>In natura</i> *	Envase asséptico - <b>lote 1</b> (dias de estocagem)			
		0	15	45	90
pH	5,3 ±0,02	4,2 ±0,02	4,2 ±0,02	4,3 ±0,02	4,3 ±0,02
°Brix	19	19	19	19	19
Acidez titulável (mg ac. Cítrico /100 ml amostra)	56	190	180	190	190

\* caldo de cana antes da formulação.

**Tabela 5.6** Análises físico-químicas durante estocagem do caldo de cana processado assepticamente.

Parâmetro	Envase asséptico - <b>lote 2</b> (dias de estocagem)			
	0	15	45	90
pH	4,15 ±0,02	4,16 ±0,02	4,13 ±0,02	4,13 ±0,02
°Brix	20	20	20	20
Acidez titulável (mg ac. Cítrico /100 ml amostra)	170	170	180	182

**Tabela 5.7** Análises físico-químicas durante estocagem do caldo de cana envasado à quente.

Parâmetro	Envase à quente (dias de estocagem)			
	0	15	45	90
pH	4,15 ±0,02	4,14 ±0,02	4,15 ±0,02	4,15 ±0,02
°Brix	20	20	20	20
Acidez titulável (mg ac. Cítrico /100 ml amostra)	170	170	170	175

Conforme os resultados obtidos, pôde-se verificar que durante a estocagem do produto processado, não houve alterações físico-químicas significativas. Em relação ao pH, houve um pequeno aumento para o lote 1 envasado assepticamente. Os demais lotes apresentaram-se com pH praticamente igual àquele apresentado pelo produto recém processado.

O lote 1 asséptico não apresentou alterações de acidez titulável, durante a estocagem. Os lotes 2 asséptico e o envasado a quente apresentaram um leve aumento da acidez titulável nos últimos dias de estocagem (após 45 dias).

## 5.6 Estabilidade do produto processado

### 5.6.1 Análise Sensorial durante estocagem

As análises foram realizadas a cada 15 dias até o final da vida útil , conforme descrito no item 4.2. Foram analisados três parâmetros em cada análise: *aparência* do produto, *aroma* e *impressão global*.

#### 5.6.1.1 Análise dos lotes 1 e 2 do envase asséptico

Para verificar se houve diferença significativa de aceitação entre as amostras, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) para cada parâmetro avaliado, conforme mostram as Tabelas 3, 4 e 5 (Apêndice B) para 15 dias de estocagem e 9, 10 e 11 (Apêndice D) para 30 dias de estocagem. Os níveis de aceitação sensorial das amostras em relação aos atributos avaliados estão expressos nos histogramas das Figuras 5.9, 5.10 e 5.11 para o lote 1 e nas Figuras 5.12, 5.13 e 5.14 para o lote 2.

De acordo com os histogramas de frequência das notas sensoriais, pôde-se verificar que 43% dos provadores julgaram a *aparência* da amostra do **lote 1** estocada por 15 dias, com notas acima de 7 na escala hedônica, que significa “gostei moderadamente a gostei muitíssimo”. 47% julgaram o *aroma* com notas acima de 7 e apenas 27% dos provadores aprovaram a amostra em termos globais, com notas acima de 7. A média das notas ficou abaixo de 7 para todos os atributos avaliados para esta amostra (Tabela 5.8). Quando estocado por 30 dias, 53% dos provadores avaliaram a amostra com notas inferiores a 6 quanto à *aparência* , indicando uma rejeição ao produto, que segundo os comentários dos provadores estava muito mais escura que as demais amostras. Quanto ao *aroma*,

a amostra com 30 dias de estocagem foi rejeitada por 50% dos provadores. Em termos globais, atributo *impressão global*, a amostra foi rejeitada por 60% dos provadores.

Em relação às amostras do **lote 2** estocadas por 15 dias, pôde-se verificar que 60% dos provadores deram notas acima de 7 para o atributo *aparência*, 63% para o *aroma* e 53% para o atributo *impressão global*. Já a amostra com 30 dias de estocagem foi aprovada por 56,7% dos provadores em relação à *aparência*, por 49,7% quanto o *aroma* e em termos globais a amostra foi aprovada por apenas 33% dos provadores (Figura 5.12). De acordo com a ANOVA realizada, houve diferença significativa de aceitação entre as amostras somente em relação ao atributo *aparência* (Tabela 5.8). Embora não tenha ocorrido diferença significativa de aceitação dos atributos *aroma* e *impressão global* entre as amostras estocadas à temperatura ambiente por 30 dias frente àquelas congeladas no dia do processo, foi observada uma certa rejeição por parte dos provadores, em relação a todos os atributos analisados.

Também foi observado que 56,7% dos provadores rejeitaram a amostra do lote 1 congelada no dia do processo. Isto indica que mesmo o congelamento da amostra não impediu alterações que levassem à uma não aceitação por parte dos provadores. A amostra 2 congelada obteve 50% de rejeição por parte dos provadores. Os valores estão ilustrados nas Figuras 5.10 e 5.13.

De acordo com os resultados obtidos nas análises sensoriais dos lotes processados assepticamente, pôde-se verificar que após 30 dias de estocagem o

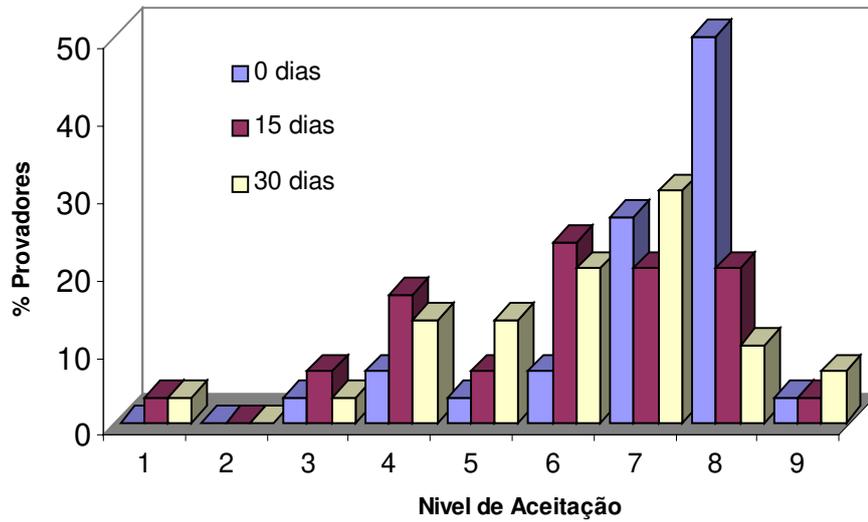
Índice de aceitação do produto foi menor que 50% para os atributos avaliados. Somente o atributo aparência do lote EA2 teve aprovação de 63,3% dos provadores, pois apresentou coloração similar à amostra controle (congelada), de acordo com os comentários registrados pelos provadores nas fichas de avaliação das amostras

**Tabela 5.8** Médias das respostas sensoriais para os atributos analisados nos lotes processados assepticamente.

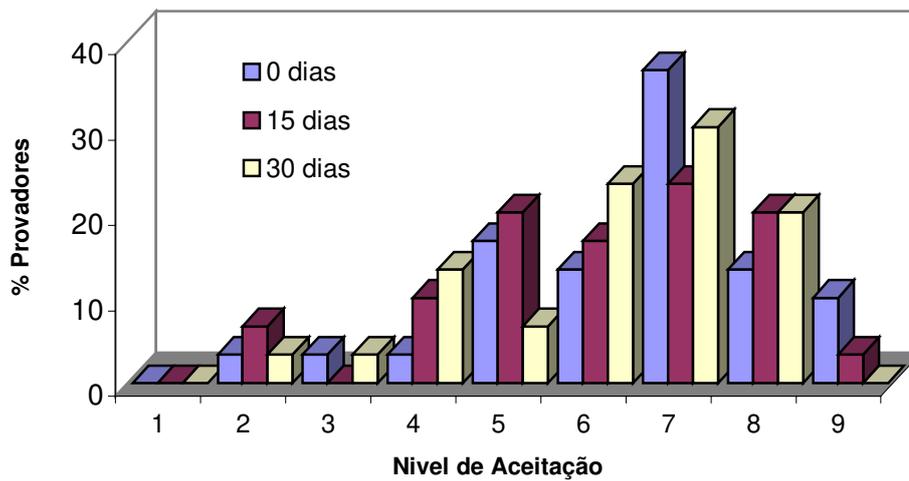
Atributo	Lote 1				Lote 2			
	Tempo (dias)				Tempo (dias)			
	0	15	30	MDS	0	15	30	MDS
<i>Aparência</i>	7,1 <sup>a</sup>	5,9 <sup>b</sup>	6,0 <sup>b</sup>	0,60	6,9 <sup>a</sup>	6,6 <sup>a</sup>	6,1 <sup>b</sup>	0,66
<i>Aroma</i>	6,4 <sup>a</sup>	6,1 <sup>a</sup>	6,1 <sup>a</sup>	0,71	6,2 <sup>a</sup>	6,6 <sup>a</sup>	6,1 <sup>a</sup>	0,91
<i>Impressão Global</i>	6,2 <sup>a</sup>	5,2 <sup>b</sup>	5,6 <sup>a</sup>	0,85	6,2 <sup>a</sup>	6,2 <sup>a</sup>	5,2 <sup>a</sup>	1,1

Médias seguidas da mesma letra em uma mesma linha não diferem significativamente a  $p \leq 0,5$ .

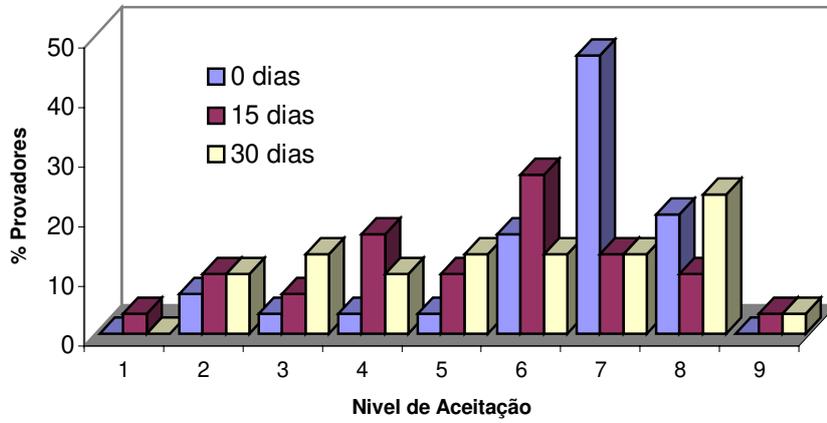
De acordo com os resultados obtidos, verifica-se que houve diferença significativa de aceitação entre a amostra do lote 1 com 15 dias de estocagem em relação à amostra congelada no dia do processo, para os atributos *aparência* e *impressão global*. Em contrapartida, a mesma diferença não foi observada no lote 2, o qual não apresentou diferença estatisticamente significativa de aceitação em nenhum dos atributos analisados.



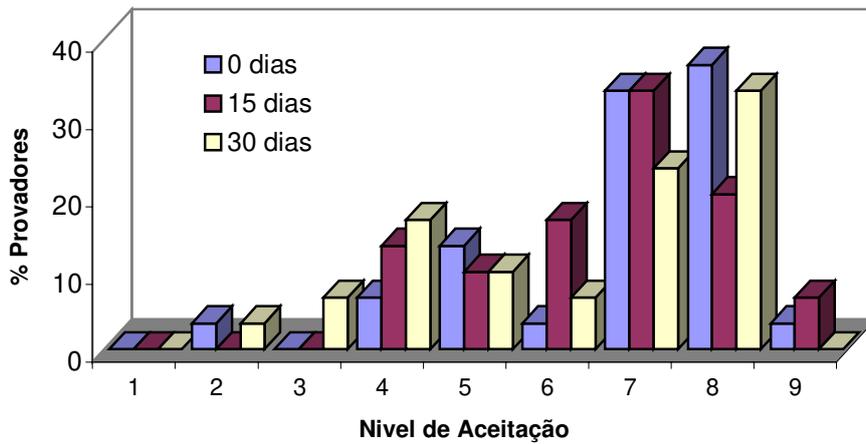
**Figura 5.9** – Nível de aceitação sensorial para o atributo *aparência* para o **lote 1** do caldo de cana processado assepticamente.



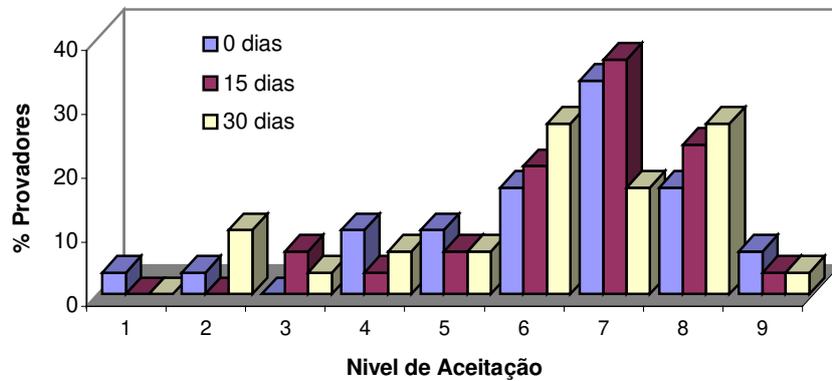
**Figura 5.10** – Nível de aceitação para o atributo *aroma* para o **lote 1** do caldo de cana processado assepticamente.



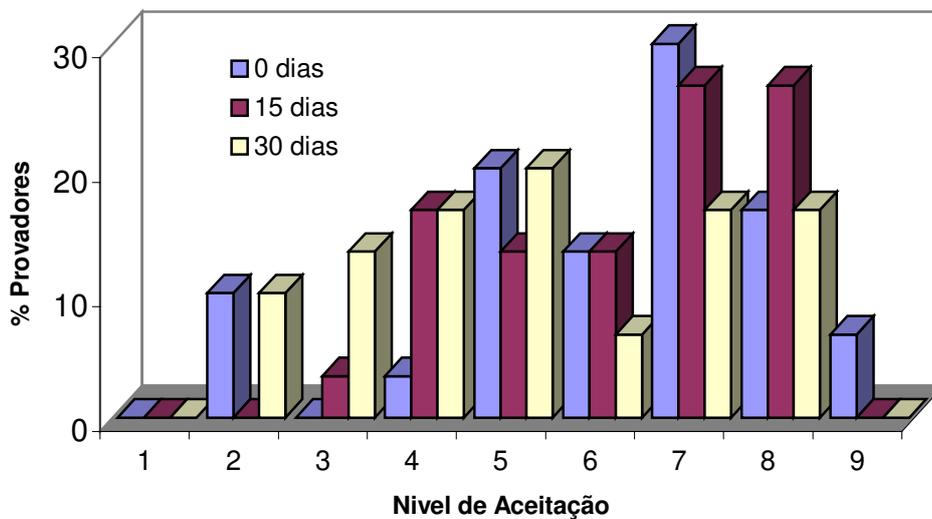
**Figura 5.11** – Nível de aceitação para o atributo *impressão global* para o lote 1 do caldo de cana processado assepticamente.



**Figura 5.12** – Nível de aceitação para o atributo *aparência* para o lote 2 do caldo de cana processado assepticamente.



**Figura 5.13** – Nível de aceitação para o atributo *aroma* para o **lote 2** do caldo de cana processado assepticamente.



**Figura 5.14** – Nível de aceitação para o atributo *impressão global* para o **lote 2** do caldo de cana processado assepticamente.

### 5.6.1.2 Análise do caldo-de-cana envasado à quente

Para verificar se houve diferença significativa de aceitação entre as amostras, uma análise de variância (ANOVA) foi realizada para cada um dos parâmetros avaliados, conforme mostram as Tabelas 6, 7 e 8 (Apêndice C), 15, 16 e 17 (Apêndice F).

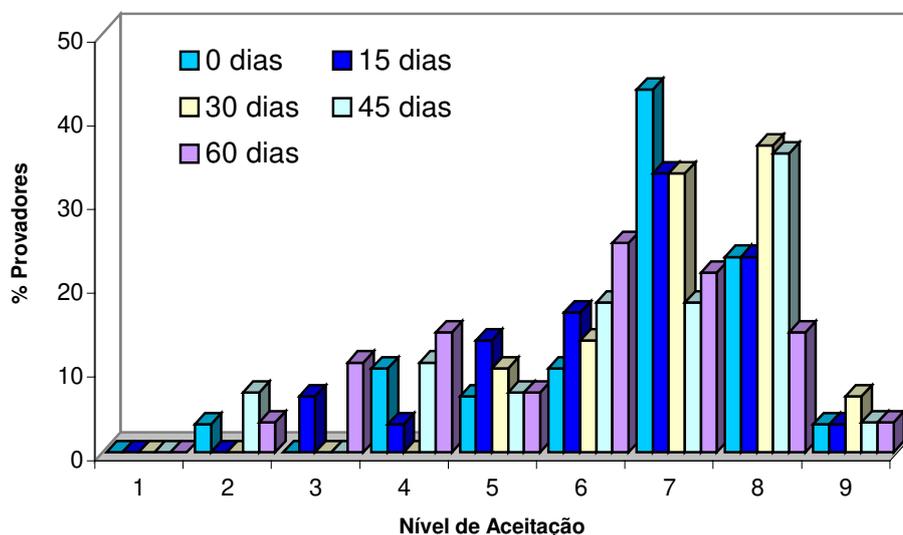
De acordo com a análise de variância, não foi observada diferença significativa de aceitação entre as amostras estocadas à temperatura ambiente frente às aquelas congeladas no dia do processo. Exceção à amostra com 30 dias que apresentou valores maiores de média sensorial para o atributo *aparência*. As médias de aceitação sensorial dos atributos avaliados são mostradas na Tabela 5.9. A mínima diferença significativa (MDS) foi obtida através do teste de Tukey.

**Tabela 5.9** Médias das respostas sensoriais os lotes envasados à quente

Atributo	Dias de estocagem					MDS
	0	15	30	45	60	
<i>Aparência</i>	6,7 <sup>a</sup>	6,5 <sup>a</sup>	7,2 <sup>b</sup>	6,4 <sup>a</sup>	5,8 <sup>a</sup>	1,1
<i>Aroma</i>	6,3 <sup>a</sup>	6,5 <sup>a</sup>	6,6 <sup>a</sup>	6,8 <sup>a</sup>	6,6 <sup>a</sup>	0,62
<i>Impressão Global</i>	6,6 <sup>a</sup>	6,3 <sup>a</sup>	6,2 <sup>a</sup>	6,1 <sup>a</sup>	6,0 <sup>a</sup>	0,81

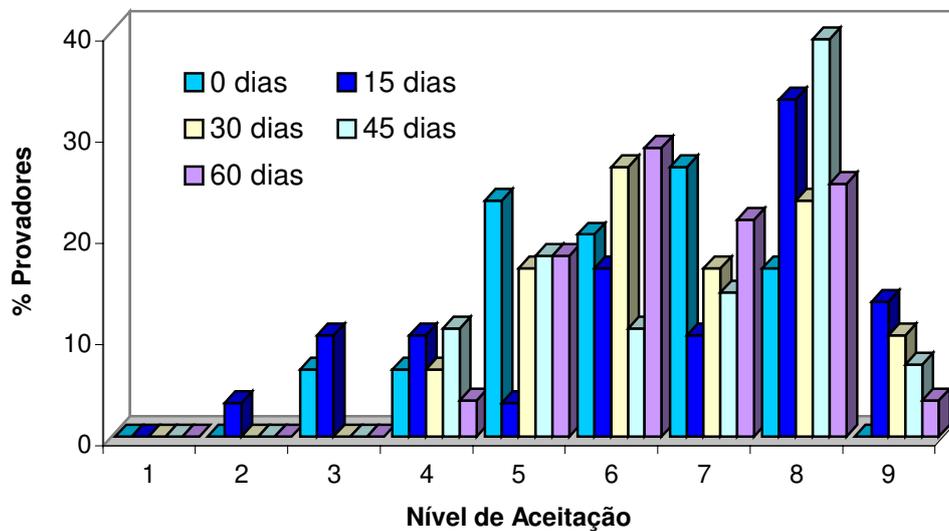
Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente a  $p \leq 0,5$ .

Embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas de aceitação sensorial entre as amostras, pôde-se verificar que as amostras estocadas tiveram menores índices de aprovação em função do tempo de estocagem, conforme ilustram as Figuras 5.15, 5.16 e 5.17.



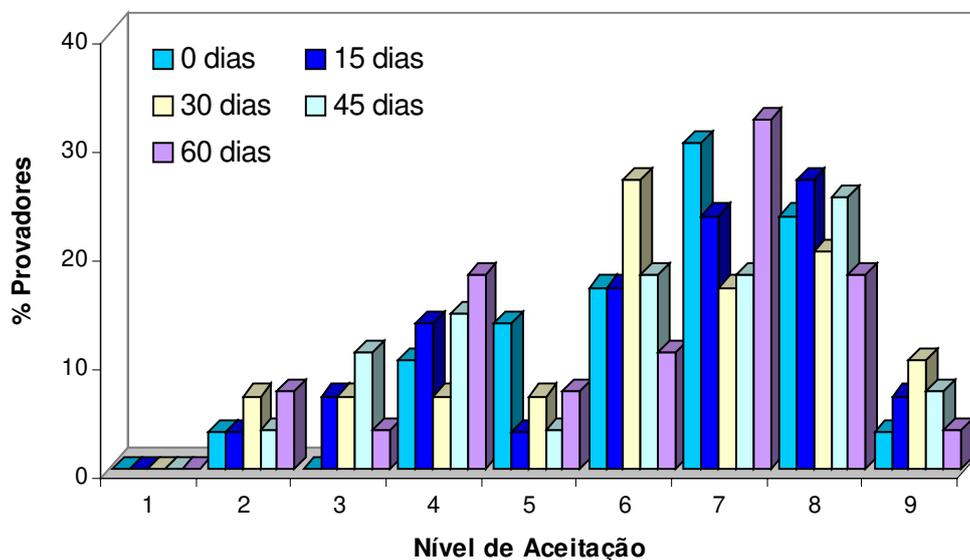
**Figura 5.15** - Nível de aceitação sensorial para o atributo *Aparência*. Lote envasado à quente.

Em relação ao atributo *Aparência*, a amostra com 15 dias de estocagem obteve 60% de aprovação (notas superiores a 7 na escala hedônica), enquanto a amostra congelada no dia do processo obteve 70%. Após 30 dias de estocagem a amostra foi aprovada por 76,7%. Após 45 dias o nível de aprovação foi de 57,1% e com 60 dias apenas 39,3 % dos provadores julgaram a amostra com notas acima de 7. Embora não tenha sido observada diferença estatisticamente significativa de aceitação sensorial entre as amostras estocadas à temperatura ambiente frente às congeladas no dia do processo, pôde-se verificar uma tendência de redução da aceitação do produto em relação à *aparência* após 45 dias de estocagem.



**Figura 5.16** – Nível de aceitação sensorial para o atributo *aroma*. Lote enchido à quente.

Em relação ao atributo *Aroma*, 57% dos provadores aprovaram a amostra com 15 dias de estocagem (notas acima de 7 na escala hedônica). Após 30 dias o produto foi aprovado por 50% dos provadores e com 45 dias a aprovação foi de 60,7%. Após 60 dias de estocagem o produto obteve apenas 50 % de aprovação em relação ao *aroma*.



**Figura 5.17** - Nível de aceitação sensorial para o atributo *Impressão Global*. Lote envasado à quente.

O atributo *Impressão Global* apresentou 57% de aprovação para a amostra estocada a temperatura ambiente por 15 dias. Quando estocado por 30 dias o produto foi aprovado por 46,7% dos provedores. Após 45 dias a aprovação foi de 50% e com 60 dias 53,6% dos provedores deram notas acima de 7 para o produto.

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que o caldo-de-cana processado e envasado à quente apresentou estabilidade de pelo menos 60 dias, nos quais não foram observadas diferenças estatisticamente significativas de aceitação sensorial entre os atributos avaliados.

### 5.6.2 Avaliação da atividade enzimática

A atividade enzimática no produto processado foi medida de forma comparativa em relação à atividade no caldo *in natura* para as enzimas polifenol oxidase (*PFO*) e peroxidase (*POD*). Os resultados estão expressos na Tabela 5.15. A atividade das enzimas *PFO* e *POD* do caldo-de-cana *in natura* estão expressos nas Figuras 1 e 2 do APÊNDICE Q.

**Tabela 5.10 Atividade enzimática do caldo *in natura* e dos lotes processados.**

Amostra	Enzima POD (peroxidase) (unidades/ min / ml)	Redução (%)	Enzima PFO (polifenol-oxidase) (unidades/ min / ml)	Redução (%)
<i>In natura</i>	44		25	
Asséptico lote 1	4	90	6,4	74,4
Asséptico lote 2	0,3	99,3	7	72
Envase à quente	0	100	0	100

De acordo com os resultados mostrados, pode-se dizer que os binômios utilizados nos tratamentos térmicos (141°C / 10 seg) para o envase asséptico e (110°C / 10 seg) seguidos de envase a 80 - 90°C, foram suficiente para inativar em até 99,3% a atividade da Peroxidase, que foi a enzima que se apresentou com maior atividade no caldo *in natura*.

A enzima *PFO* foi encontrada com uma menor atividade no caldo *in natura*, quando comparada à enzima *POD*. Possivelmente tal fato se deve ao substrato utilizado no método de determinação da atividade enzimática. De acordo com

Bucheli e Robinson (1994) e Qudsieh et al. (2002) a *PFO* da cana-de-açúcar utiliza um limitado número de compostos fenólicos e o ácido clorogênico apresenta-se como o substrato com maior especificidade para esta enzima. Desta forma é provável que a *PFO* estivesse presente em níveis superiores aos encontrados no ensaio, em razão do catecol ter sido utilizado como substrato. De acordo com Bucheli (1994) A *PFO* é uma enzima oxigênio-dependente, diferentemente da *POD* que oxida compostos fenólicos na presença de  $H_2O_2$ .

A *POD* apresentou maior atividade no caldo *in natura*, e obteve maiores taxas de redução de atividade. Em relação aos dois lotes produzidos assepticamente, a atividade da *PFO* foi maior no lote 1 do que no lote 2. Possivelmente isto se deve ao fato de o lote 1 apresentar maior aporte de  $O_2$ , uma vez que as garrafas deste lote apresentaram maior *head space*.

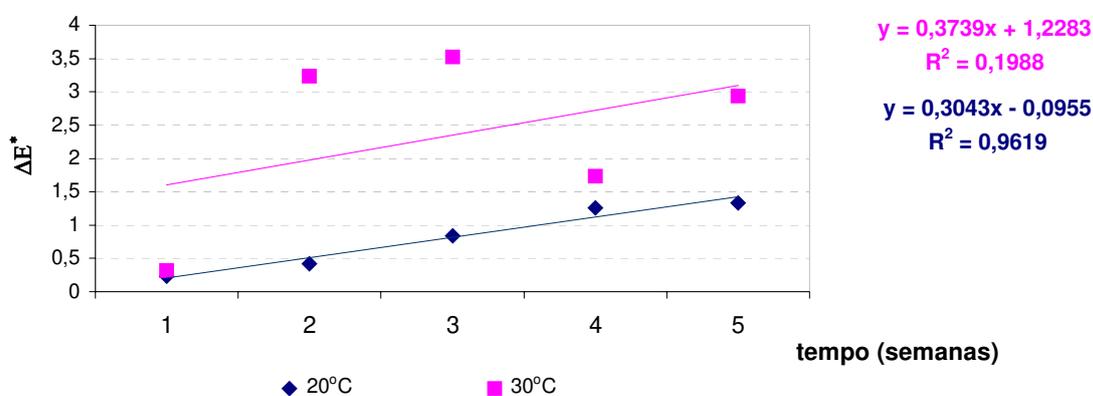
É bastante provável que o enchimento à quente, ao eliminar o ar ( $O_2$ ) do espaço interno da embalagem, impediu a atividade da enzima *PFO*. Tal fato não foi observado nos lotes processados assepticamente, que tiveram uma menor redução tanto da *PPO* quanto da *POD*. O caldo-de-cana submetido ao enchimento à quente recebeu um tratamento térmico mais severo que aquele submetido ao envase asséptico, pois após esterilização o produto permaneceu por mais 2 ou 3 minutos entre 85 e 90°C. Tal fato pode ter contribuído para a inativação da enzima *PFO*, que é mais sensível ao tratamento térmico que a *POD*. Portanto, o tratamento térmico associado à eliminação do  $O_2$  no enchimento à quente possivelmente contribuiu para que a atividade da *PFO* fosse reduzida. Tal fato não foi observado no caldo-de-cana envasado assepticamente. Embora a temperatura

utilizada no processamento tenha sido maior (141°C), o tempo foi menor (10 s). Este tratamento associado à presença de O<sub>2</sub> nas garrafas possivelmente fez com que as enzimas ,que não foram inativadas pelo tratamento térmico, oxidassem os compostos fenólicos presentes no caldo-de-cana e resultado no maior escurecimento nos lotes processados assepticamente.

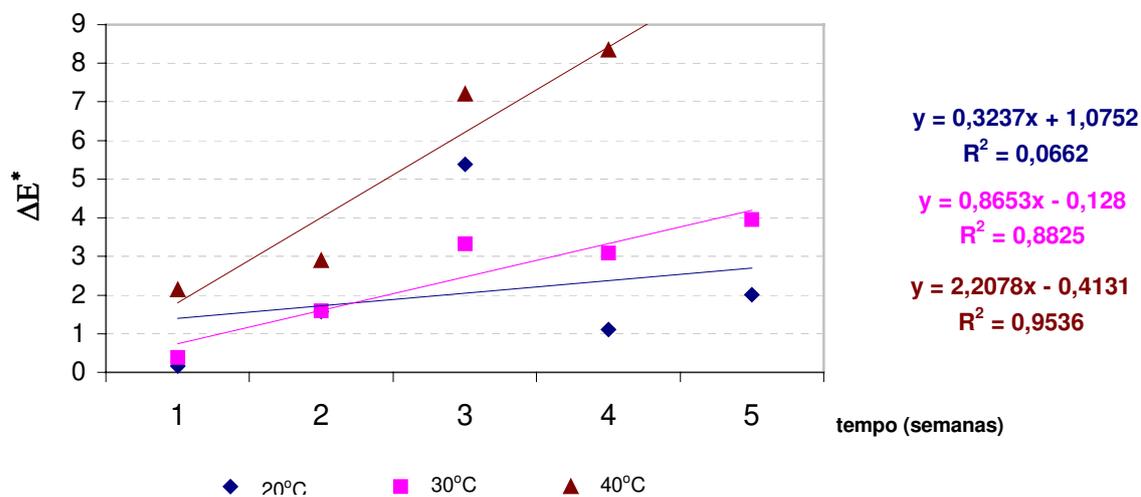
### 5.6.3 Efeito da temperatura de estocagem no escurecimento do caldo-de-cana

A variação total da coloração do caldo-de-cana durante estocagem às temperaturas de 20, 30 e 40°C está ilustrada na Tabela 5.14. A Tabela 18 (APÊNDICE F), mostra a evolução da coloração (em relação aos parâmetros L\*, a\*, b\*) do caldo-de-cana proveniente dos processos de industrialização.

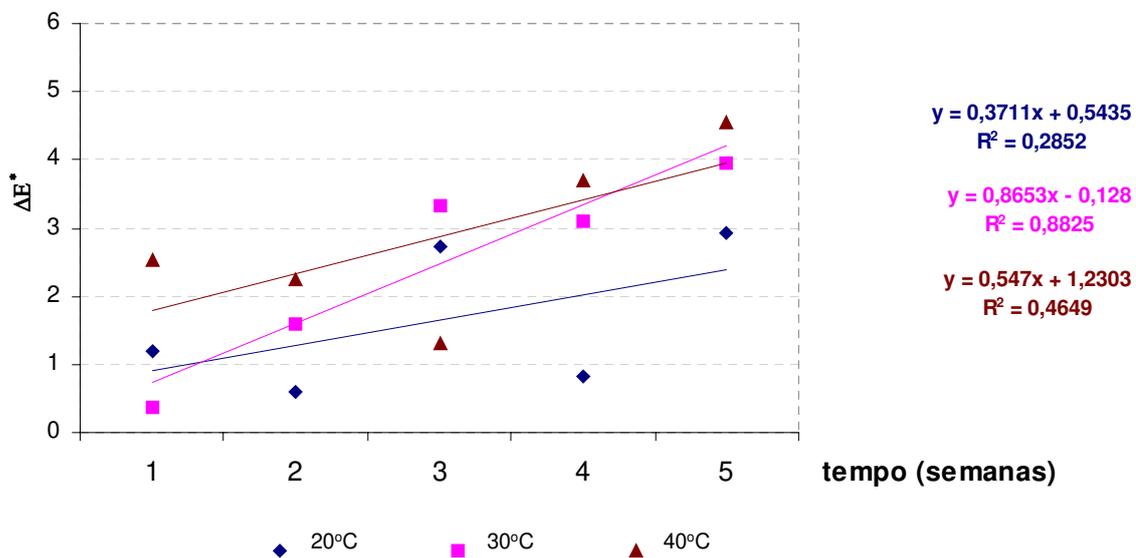
Para facilitar a análise dos resultados, os dados obtidos foram plotados em gráficos onde foi relacionado a variação total da cor, expressa por  $\Delta E^*$  com a temperatura de estocagem e o tempo de exposição. Foi observado um escurecimento do produto em função do aumento da temperatura de estocagem, conforme ilustram as Figuras 5.18, 5.19 e 5.20.



**Figura 5.18** – Alteração da coloração para o *lote1* do caldo-de-cana envasado assepticamente durante estocagem.



**Figura 5.19** – Alteração da coloração para o *lote 2* do caldo-de-cana envasado assepticamente durante a estocagem.



**Figura 5.20** – Alteração da coloração para o caldo-de-cana envasado à quente durante estocagem.

De acordo com estes resultados verificou-se que a temperatura influencia no escurecimento do caldo-de-cana, e quanto maior a temperatura mais rápida é a reação. Observou-se um maior escurecimento do lote EA2 quando estocado a 40°C. Em relação ao lote1 processado assepticamente, houve formação de gás em todas as garrafas utilizadas no teste a 40°C, o que indica o desenvolvimento (germinação) de esporos de microrganismos termodúricos, uma vez que estes microrganismos podem sobreviver quando expostos a altas temperaturas, como a utilizada no processamento térmico do caldo de cana (Jay, 1992). Por esta razão não foi possível obter os resultados deste lote para tal temperatura.

Observou-se que os valores de  $\Delta E$  do caldo-de-cana nas três temperaturas testadas não foram lineares. O enchimento e fechamento manual das garrafas de caldo de cana no processamento ocasionaram um enchimento não uniforme das mesmas, o que levou a uma variação no tamanho dos espaços livres (*head space*). A variação do *head space* explica a não linearidade dos valores de  $\Delta E$ . Quanto maior foi o *head space* das garrafas, maior foi o escurecimento do caldo-de-cana. O maior aporte de oxigênio causou reações oxidativas induzidas pelas enzimas polifenol oxidase e ou peroxidase remanescentes.

**Tabela 5.11** Variação total de cor ( $\Delta E^*$ ) em função da temperatura de estocagem e tempo de exposição.

Processo	Temperatura (°C)	Estocagem (dias)				
		7	14	21	28	35
Envase	20	0,23	0,42	0,84	1,26	1,34
Asséptico <i>Lote 1</i>	30	0,31	3,24	3,53	1,74	2,93
Envase	20	0,16	1,57	5,39	1,1	2,01
Asséptico <i>Lote 2</i>	30	0,38	1,59	3,33	3,09	3,95
	40	2,15	2,9	7,2	8,34	10,46
Envase	20	1,16	0,77	2,21	0,58	1,8
À quente	30	1,19	0,6	2,73	0,82	2,94
	40	2,54	2,25	1,31	6,69	4,56

## 6 CONCLUSÕES

⇒ A variedade de cana-de-açúcar *RB72-454* mostrou ser a mais aceita pelos provadores em relação aos atributos: *gosto doce, gosto ácido, sabor e impressão global*;

⇒ De acordo com a análise da superfície de resposta obtida através do teste de aceitação da formulação do caldo de cana, observou-se um aumento na aceitação do produto quando este era mais doce e menos ácido;

⇒ As análises sensoriais pós-processo mostraram que o caldo de cana quando processado assepticamente, apresentou-se estável durante 30 dias de estocagem em temperatura ambiente;

⇒ No caso do caldo de cana processado e envasado à quente, a vida útil chegou a 60 dias, onde não foi verificada diferença significativa de aceitação sensorial para os atributos avaliados;

⇒ O aumento da temperatura de estocagem das garrafas induziu a um maior escurecimento do produto para todos os lotes processados;

⇒ O efeito da temperatura de estocagem no lote envasado a quente foi menor quando comparado aos lotes processados assepticamente. Observou-se que quanto maior o espaço livre (*head space*), maior foi o escurecimento

do produto. A variação de cor (valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) entre as garrafas utilizadas no teste foi devida à variação do *head space*, uma vez que o envase das garrafas foi feito manualmente;

⇒ Houve redução de 90 a 99 % da atividade da enzima Peroxidase (*POD*) no lote 1 e lote 2, respectivamente e de 100 % no lote envasado à quente. A enzima Polifenol-oxidase (*PFO*) apresentou redução de 74,4% no lote 1, 72% no lote 2 e 100 % no lote envasado à quente. A maior redução da atividade da *PFO* no lote envasado à quente pode ser explicada pelo fato do tratamento térmico neste processo ter sido mais severo e pela eliminação do  $O_2$  do espaço interno das garrafas (*head space*). Já a peroxidase foi inativada pelo efeito da temperatura de processo.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABREU, L. F. **Avaliação de processo de sanificação química de garrafas plásticas para sistemas assépticos**. Campinas, 2001. 117p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas.
2. ABREU, L.F.; FARIA, J.A.F. Evaluation of a system for chemical sterilization of packages. **Packaging Technology and Science** V.17, Issue 1, 2004 p. 37-42.
3. AIR CLEAN. **Relatório técnico de certificação de conformidade em área limpa**. Campinas, 27/03/2003.
4. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA, Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da [República Federativa do Brasil]**; DF, 10 de janeiro de 2001. Disponível em <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=144>>. Acesso em 04 ago.2003.
5. BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.;BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e indústria**. Campinas: Editora da Unicamp, 2001.
6. BALDRY, M. G. C. The bactericidal, fungicidal and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid. **Journal of Applied Bacteriology**, v.54, nº3, p.417-423, 1983.
7. BANWART, G. J. **Basic Food Microbiology**. New York, An Avi Book, p. 651- 710, 1989.
8. BARUFFALDI, R.; DE OLIVEIRA, M. N. Conservação de alimentos por tratamento térmico. In: BARUFFALDI, R.; DE OLIVEIRA, M. N. **Fundamentos de Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1998. V.3, cap.5.p.83-119.

9. BENNETT, E.S.F. O fim de uma era (ISO 14664 substitui oficialmente a U.S. Fed. Std. 209E). **Revista da Sociedade Brasileira de Controle da Contaminação (SBCC)**, São José dos Campos, nº 06, p.28-29, jan/fev, 2002.
10. BHUPINDER, K.; SHARMA, K.P.; HARINDER, K. Studies on the development and storage stability of ready to serve bottled sugarcane juice. **International Journal of Tropical Agriculture**, "s.l." v. 9, nº 2, p.128-134, jun, 1991.
11. BLOIS, A. Concepção, realização e certificação de áreas limpas. In: **Seminário Sociedade Brasileira de Controle da Contaminação (SBCC): Introdução à tecnologia de áreas limpas**, São José dos Campos, 2002.
12. BLÜMKE, H. Sterile room techniques in the food industry. In: REUTER, H. **Aseptic Processing of Foods**. Hamburg: Technomic, 1993. Cap.6.11, p.265-270.
13. BRAZ, H. Garapa boa deve vir de cana apropriada. **O Estado de São Paulo**, São Paulo, 27 Ago.2003. Suplemento Agrícola, p.1-3.
14. BUCHELI, C.S.; ROBINSON, S. P. Contribution of enzymatic browning to color insugarcane juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, "s.l."v. 42 nº2, p.257-261, fev, 1994.
15. BUCHNER, N. Aseptic packaging in glass and plastic bottles. In: REUTER, H. **Aseptic Processing of Foods**. Hamburg: Technomic, 1993. Cap.6.8 p. 237-239.
16. CAMPOS, C.F.; SOUZA, P.E.A.; COELHO, V.; GLÓRIA, M. B. A. Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 20, n. 6, p.487-500, 1996.

17. DRYER, J. M.; DEIBEL, K. E. Canned foods – tests for commercial sterility. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods**. 3<sup>rd</sup>. ed Washington: American Public Health Associationm 1992. Chap. 60, p. 1037-1049.
18. FARIA, J. A. F. Vida-de-prateleira de alimentos processados assepticamente. In: **II Seminário Latino Americano – Avanços em Tecnologia Para o Processamento e Envasamento Asséptico**. Campinas, 1993. p.7-28.
19. FARIA, J. A. F. Estabilidade de alimentos em embalagens plásticas. Apostila de aula. Campinas, fev.1990.
20. FARIA, J. A. F. **Comunicação Pessoal**. Campinas, Outubro/Novembro, 2002.
21. FARIA, J. A. F. **Consulta Pessoal**. Campinas, Maio/Julho, 2003.
22. FARIA, J. A. F. **Sistema de esterilização de embalagens**. Pedido de patente SEDAI (Serviço Estadual de Assistência aos Inventores). Unicamp/FEA, 1999.
23. GRIMM, L. Assepsia a frio – Um processo de envase do futuro? **Engarrafador Moderno**, São Caetano do Sul, n. 56, p.72-74, mar/abr, 1998
24. GODDARD, M.R. The storage of thermally processed foods in containers other than cans. In: MAN, C.M.D.; JONES. A. A. **Shelf life evaluation of Foods**. London: Chapman & Hall,1997. Chap 13, p.256-274.
25. HOLDSWORTH, S. D. **Aseptic processing and packaging of Food Products**, New York: Elsevier Science Publisher, 1992, p.272-275.

26. HORWITZ, W. 13<sup>th</sup>. Ed. **Association of Official Analytical Official Methods of Association of Official Analytical Chemists**, Washington, p.1044, 1980.
27. HUNTERLAB. **User's Manual** – version 3.1. Hunter Associates Laboratory, Inc., p.17-18, 1996a.
28. HUNTERLAB. **CIE L\*a\*b\* Color Scale**. Applications Note. “s.l.” Vol.8, nº7, Jul, 1996b.
29. ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). Programas de mustreo para conservas de alimentos, In: **Microrganismos de los alimentos – Métodos de mustreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas** . Chap15, p.149-154. V.II, Editorial Acribia, Zaragoza, 1981.
30. JAY, J.M. **Modern Food Microbiology**. New York: Avi , 1992. Chap 14, p.335-355.
31. JOYCE, D. A. Microbiological aspects of aseptic processing and packaging. In: WHILLHOFT, E. M. A. **Aseptic Processing and Packaging of Particulate Foods**. London: Chapman & Hall, 1995. Chap 8, p.160-164.
32. KLAUS, J.S. Soluções para o projeto de salas limpas na indústria de alimentos. **Revista da Sociedade Brasileira de Controle de Contaminação (SBCC)**, São José dos Campos, n.8 p.14-16, mai/jun, 2002.
33. LEWIS, M.; HEPPELL, N. Packaging systems. In: LEWIS, M.; HEPPELL, N. **Continuous Thermal Processing of Foods**. Maryland: Aspen Publishers, 2000. Chap. 7.6, p.294-295.
34. MAN, C.M.D.; JONES. A. A. **Shelf life evaluation of Foods**. London: Chapman & Hall, 1997.

35. MANO, C. Os produtos campeões de venda num mundo ávido por praticidade. **Revista Exame**, São Paulo, v.34, n.13, p.40-43, jun, 2000.
36. MEILGAARD, M.; CIVILLE, B.; CARR, T. **Sensory Evaluation Techniques**. 3<sup>rd</sup> ed. Boca Raton: CRC Press, 1999.
37. PETRUS, R. R. **Desenvolvimento de processo e avaliação de estabilidade de bebida isotônica acondicionada em garrafa plástica asséptica**. Campinas, 2000. 122p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
38. PETRUS, S. S.; FARIA, J. A. F. F.; DELBEN, L. A. S. Avaliação de conformidade das condições operacionais de uma área limpa para envase asséptico. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, vol 17, n°12, p.22-30, set, 2003.
39. PETRUS, S. S.; FARIA, J. A. F. F. A importância da aplicação da tecnologia de salas limpas na indústria de alimentos. **Boletim SBCTA**. Campinas, vol 37, n°1, jan/jun 2003.
40. PIERGIOVANNI, L. Materiais de Embalagem e Tecnologias de Envase. In: BARUFFALDI, R.; DE OLIVEIRA, M. N. **Fundamentos de Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1998. V.3, cap. 10: p. 246-255.
41. PINTO, E. S. L. **Cana de açúcar: Estudos brasileiros n°22**. Ministério da Agricultura, 1965.
42. POTTER, N. N.; HOTCHKISS, J. H. **Food Science**. New York: Chapman & Hall. 5<sup>th</sup> ed. p.139-199, 1995.
43. QUDSIEH, H. Y.; YUSOF, S.; OSMAN, A.; RAHMAN, R.A. Physico-chemical changes in sugarcane (*Sacharum officinarum* var yellow cane)

and the extracted juice at different portions of stem during development and maturation. **Food Chemistry**, n.75, p.131-137, 2001.

44. QUDSIEH, H. Y. M.; YUSOF, S.; OSMAN, A.; RAHMAN, R.A. Effect of maturity on chlorophyll, tannin, color and poliphenol oxidase (PPO) activity of sugarcane juice (*Saccharum officinarum* var. yellow cane). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, vol. 50, n.6, p. 1615-1618, 2002.
45. REUTER, H. Processes for packaging materials sterilization and system requirements. In: REUTER, H. **Aseptic Processing of Foods**. Hamburg: Technomic, 1993. Chap.5, p.155-165.
46. REUTER, H. Aseptic Packaging Systems. In: **Aseptic Packaging of Food**. Hamburg: Technomic, 1988. Chap. 4.1, p.102-104.
47. ROLAND, N. Aseptic packaging system for PET bottles. **Fruit Processing**, v.6,n.9, p.367-371, 1996.
48. SACHS, B. Glass for aseptic packaging. In: **Aseptic Processing of Foods**. Hamburg: Technomic, 1993. Chap.7.3, p.293-294.
49. SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C. A. ; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. Livraria Varela, São Paulo, cap.9 e 10, p.73-91, 2001.
50. SINGH, D.; CHAUHAN, O. P.; TYAGI, S. M.; BALYAN, D. K. Studies on Preservation of Sugarcane Juice. **International Journal of Food Properties**, v.5, n.1, p.217-229, 2002.
51. SIVASUBRAMANIAN, C.G.; PAI, J.S. Effect of heat treatments on the quality of sugarcane juice. **Indian Food Packer**, v.48, n.2, p.51-54, 1994.
52. SOCCOL, C. R.; SCHWAB, A.; KATAOKA, C.E. Avaliação microbiológica do caldo de cana (garapa) na cidade de Curitiba. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v.8 n.2, p. 116-125, jul/dez, 1990.

53. SPENCER, E. F. **Cane sugar handbook: A manual for cane sugar manufactures and their chemists**. New York: J. Wiley, 1963. 845 p.
54. STONE, H. SIDEL, J. L. **Sensory Evaluation practices**. Orlando, FL: Academic Press, 1985. 287p.
55. STUPIELLO, J.P. A cana-de-açúcar como matéria-prima. In: PARANHOS, S. B. **Cana-de-açúcar: Cultivo e utilização** . v.2. Campinas: Fundação Cargill, 1987.
56. TOLEDO, R. T. Chemical Sterilans for Aseptic Packaging. **Food technology**, p.102-112, mai, 1975.
57. TRUDA, L. **A defesa da produção açucareira**. Rio de Janeiro: Ministério da Indústria e Comercio; Instituto do Açúcar e do Alcool. Coleção Canavieira nº6, 1971.
58. THOMAS, R. W. P. A microflora dos produtos engarrafados. **Engarrafador Moderno**, p.69-74, set/out, 1996.
59. UNICA. **União da Agroindústria Canavieira de São Paulo**. Disponível em: <http://www.unica.com.br/pages/estatisticas.asp#>. Acesso em: 15 jan. 2004.
60. YUSOF, S.; SHIAN, L. S.; OSMAN, A. Changes in quality of sugar-cane juice upon delayed extraction and storage. **Food Chemistry**, v.68, p. 395-401, 2000.

## APÊNDICE A - Contagem de partículas totais e viáveis na sala limpa

**Tabela 1:** Contagem de partículas totais em suspensão na sala limpa.

Ambiente monitorado	Estado ocupacional	Contagem partículas (/m <sup>3</sup> )		Padrão ISO 14644-1 (partículas/m <sup>3</sup> )	
		≥ 0,5µm	≥ 5,0µm	≥ 0,5µm	≥ 5,0µm
Sala de envase (ISO classe 7)	como construída	5371	106	352000	2930
	em repouso	5018	0		
	Em operação	81237	1131		

Adaptado de Petrus e Faria (2003).

**Tabela 2:** Contagem de microrganismos em suspensão na sala limpa.

Ambiente monitorado	Estado ocupacional	Contagem microrganismos (UFC/m <sup>3</sup> )		Padrão NASA (UFC/m <sup>3</sup> )
		Global	Bolores e leveduras	
Sala de envase (ISO classe 7)	como construída	1,2	0	17,7
	em repouso	0,4	0	
	Em operação	15,2	2,4	

Adaptado de Petrus e Faria (2003).

**APÊNDICE B** – Análise de variância para análise sensorial Lotes EA – 15 dias de estocagem.

**Tabela 3** - Análise de variância para o atributo *Aparência*. Lotes EA1 e EA2.

Fonte da variação	GL	SQ	MQ	F cal	F tab (5%; 3;29)
Amostra	3	21,70	7,23	8,82	2,93*
Provador	29	226,24	7,80	9,52	
Resíduo	87	71,06	0,82		
TOTAL	119	319,00			

\* ( $p < 0,05$ )

**Tabela 4** - Análise de variância para o atributo *Aroma*. Lotes EA1 e EA2.

Fonte da variação	GL	SQ	MQ	F cal	F tab (5% 3,29)
Amostra	3	4,9	1,6	1.45	2,93*
Provador	29	236,8	8,2	7,3	
Resíduo	87	97,6	1,1		
TOTAL	119	339,3			

\* ( $p < 0,05$ )

**Tabela 5** - Análise de variância para o atributo *Impressão Global*. Lotes EA1 e EA2.

Fonte da variação	GL	SQ	MQ	F cal	F tab (5% 3,29)
Amostra	3	24,9	8,3	5,2	2,93*
Provador	29	236,2	8,1	5,0	
Resíduo	87	139,9	1,6		
TOTAL	119	401			

\* ( $p < 0,05$ )

**APÊNDICE C** – Análise de variância para análise sensorial Lote EQ – 15 dias de estocagem.

**Tabela 6** - Análise de variância para o atributo *Aparência*. Lote envasado à quente.

Fonte da variação	GL	SQ	MQ	F cal	F tab <sub>(1;29)</sub>
<b>Amostra</b>	1	0,15	0,15	0,38	<b>4,18*</b>
Provador	29	123,35	4,25	10,87	
Resíduo	29	11,35	0,39		
Total	59	134,85			

\*( $p < 0,05$ )

**Tabela 7** - Análise de variância para o atributo *Aroma*. Lote envasado à quente.

Fonte da variação	GL	SQ	MQ	F cal	F tab <sub>(1;29)</sub>
<b>Amostra</b>	1	3,27	3,27	2,33	<b>4,18*</b>
Provador	29	147,73	5,09	3,63	
Resíduo	29	40,73	1,40		
Total	59	191,73			

\* ( $p \leq 0,05$ )

**Tabela 8** - Análise de variância para o atributo *Impressão Global*. Lote envasado à quente.

Fonte da variação	GL	SQ	MQ	F cal	F tab <sub>(1;29)</sub>
<b>Amostra</b>	1	0,07	0,07	0,03	<b>4,18*</b>
Provador	29	108,93	3,75	1,58	
Resíduo	29	68,93	2,38		
Total	59	177,93			

\*( $p \leq 0,05$ )

**APÊNDICE D – Análise de variância para análise sensorial Lotes EA – 30 dias de estocagem**

**Tabela 9:** Análise de variância para o atributo *Aparência*. Lotes EA1 e EA2 .

Fonte da variação	GL	SQ	MQ	F cal	F tab <sub>(1;29)</sub>
Amostra	3	29,16	9,72	9,99	<b>2,93*</b>
Provedor	29	255,58	8,81	9,06	
Resíduo	87	84,59	0,97		
Total	119	369,33			

\*( $p \leq 0,05$ )

**Tabela 10:** Análise de variância para o atributo *Aroma*. Lotes EA1 e EA2.

Fonte da variação	GL	SQ	MQ	F cal	F tab <sub>(1;29)</sub>
Amostra	<b>3</b>	0,49	0,16	0,08	<b>2,93*</b>
Provedor	29	188,07	6,49	3,34	
Resíduo	87	168,76	1,94		
Total	119	357,33			

\*( $p \leq 0,05$ )

**Tabela 11:** Análise de variância para o atributo *Impressão Global*. Lotes EA1 e EA2.

Fonte da variação	GL	SQ	MQ	F cal	F tab <sub>(1;29)</sub>
Amostra	<b>3</b>	18,63	6,21	2,61	<b>2,93*</b>
Provedor	29	232,68	8,02	3,38	
Resíduo	87	206,63	2,38		
Total	119	457,93			

\*( $p \leq 0,05$ )

**APÊNDICE E** – Análise de variância para análise sensorial Lotes EQ – 30 dias de estocagem

**Tabela 12** - Análise de variância para o atributo *Aparência*. Lote EQ.

Fonte da variação	GL	SQ	MQ	F cal	F tab <sub>(1;29)</sub>
Amostra	1	0,60	0,60	1,21	<b>4,18*</b>
Provador	29	72,73	2,51	5,05	
Resíduo	29	14,40	0,50		
Total	59	87,73			

\*( $p \leq 0,05$ )

**Tabela 13** - Análise de variância para o atributo *Aroma*. Lote EQ.

Fonte da variação	GL	SQ	MQ	F cal	F tab <sub>(1;29)</sub>
Amostra	1	0,6	0,6	0,49	<b>4,18*</b>
Provador	29	83,73	2,89	2,36	
Resíduo	29	35,4	1,22		
Total	59	119,73			

\*( $p \leq 0,05$ )

**Tabela 14** – Análise de variância para o atributo *Impressão Global*. Lote EQ.

Fonte da variação	GL	SQ	MQ	F cal	F tab <sub>(1;29)</sub>
Amostra	1	6,02	6,02	2,46	<b>4,18*</b>
Provador	29	108,48	3,74	1,54	
Resíduo	29	70,48	2,43		
Total	59	184,98			

\*( $p \leq 0,05$ )

**APÊNDICE F** – Análise de variância para análise sensorial Lotes EQ – 45 e 60 dias de estocagem

**Tabela 15** – Análise de variância para o atributo *Aparência*. Lote EQ.

Fonte da variação	GL	SQ	MQ	F cal	F tab <sub>(1;29)</sub>
Amostra	2	11,14	5,57	2,11	<b>3,35*</b>
Provador	27	113,14	4,19	1,59	
Resíduo	54	142,86	2,65		
Total	83	267,143			

\*( $p \leq 0,05$ )

**Tabela 16** – Análise de variância para o atributo *Aroma*. Lote EQ.

Fonte da variação	GL	SQ	MQ	F cal	F tab <sub>(1;29)</sub>
Amostra	2	4,79	2,34	1,13	<b>3,35*</b>
Provador	27	59,67	2,21	1,04	
Resíduo	54	114,55	2,12		
Total	83	179			

\*( $p \leq 0,05$ )

**Tabela 17** – Análise de variância para o atributo *Impressão Global*. Lote EQ.

Fonte da variação	GL	SQ	MQ	F cal	F tab <sub>(1;29)</sub>
Amostra	2	8,00	4,00	1,49	<b>3,35</b>
Provador	27	144,75	5,36	1,99	
Resíduo	54	145,00	2,69		
Total	83	297,75			

\*( $p \leq 0,05$ )

**APÊNDICE G** – Valores de L\*, a\* e b\* em função da temperatura de estocagem das garrafas contendo caldo de cana dos três lotes processados.

**Tabela 18:** Alteração da coloração do caldo de cana processado em função da temperatura de estocagem

	PADRAO			7 DIAS			14 DIAS			21 DIAS			28 DIAS			35 DIAS			
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	B*	L*	a*	b*	
	20°C	36,8	-2,02	10,7	36,9	-2,05	10,9	36,6	-1,8	10,3	36,2	-1,5	10,3	35,8	-1,4	10,2	37,6	-1,2	11,4
<b>EA1</b>	30°C	36,8	-2,02	10,7	36,8	-1,88	10,9	34,6	-0,8	8,64	33,8	-0,4	9,74	35,4	-1,2	10,1	34,7	-0,5	9,34
	40°C	36,8	-2,02	10,7	Houve formação de gás em todas as garrafas em teste nesta temperatura														
	20°C	37,7	-1,72	11,7	37,5	-1,72	11,7	36,7	-1,4	10,5	33,1	-0,5	9,2	36,8	-1,3	11,2	36,5	-0,7	10,5
<b>EA2</b>	30°C	37,7	-1,72	11,7	37,9	-1,68	12	36,6	-1,1	10,7	34,9	-0,2	10,8	35,3	-0,4	10,3	34,9	0,24	9,61
	40°C	37,7	-1,72	11,7	36,1	-1,76	10,2	35,1	-0,5	11,8	32,7	1,73	7,8	32	2,4	7,2	36	2,8	7,8
	20°C	36,3	-1,36	8,83	37	-2,17	9,3	36,1	-1,9	8,29	34,1	-0,8	9,03	35,8	-1,7	8,79	34,8	-1,3	7,84
<b>EQ</b>	30°C	36,3	-1,36	8,83	36,9	-2,17	9,42	35,9	-1,8	8,54	37,6	-2,4	11	35,7	-1,9	8,56	33,9	-1,4	7,12
	40°C	36,3	-1,36	8,83	38	-1,05	10,7	35,4	0,06	10,3	35,1	-1,7	8,5	33,2	0,08	7,37	32,2	0,08	7,37

**APÊNDICE H – GARRAFAS DE CALDO DE CANA ESTOCADAS A 20°C – EFEITO NO ESCURECIMENTO**



**Figura 1:** Garrafas estocadas a 20°C por cinco semanas. Envase asséptico lotes 1 e 2 e envase a quente.

**APÊNDICE I – GARRAFAS DE CALDO DE CANA ESTOCADAS A 30°C – EFEITO NO ESCURECIMENTO**



**Figura 2:** Garrafas estocadas a 30°C por cinco semanas. Envase asséptico Lote1 e envase à quente.

**APÊNDICE J – GARRAFAS DE CALDO DE CANA ESTOCADAS A 40°C – EFEITO NO ESCURECIMENTO**



**Figura 3 :** Garrafas estocadas a 40°C por 5 semanas. Envase asséptico Lotes 1 e 2 e envase à quente

**APÊNDICE L – MODELO DE FICHA PARA AVALIAÇÃO SENSORIAL DE CALDO DE CANA *in natura*.**

Nome: \_\_\_\_\_ e mail : \_\_\_\_\_ Data: \_\_/\_\_/\_\_

Por favor, prove a amostra codificada de caldo de cana *in natura* e indique o quanto você gostou ou desgostou em relação aos atributos descritos, de acordo com a escala abaixo:

**AMOSTRA:** \_\_\_\_\_

<b>Atributo</b>	<b>Valor</b>	
1) Aparência (COR)	_____	9- Gostei muitíssimo
2) Aroma	_____	8- Gostei muito
3) Sabor	_____	7-Gostei moderadamente
4) Gosto ácido	_____	6- Gostei ligeiramente
5) Gosto doce	_____	5- Nem gostei nem desgostei
6) Impressão global	_____	4- Desgostei ligeiramente
		5- Desgostei moderadamente
		2- Desgostei muito
		1-Desgostei muitíssimo

O que você mais gostou nesta amostra?

---

---

---

O que você menos gostou nesta amostra?

---

---

---

Muito Obrigada

**APÊNDICE M – MODELO DE FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL PARA ESCOLHA DA FORMULAÇÃO DO CALDO DE CANA**

Nome: \_\_\_\_\_ e-mail: \_\_\_\_\_ Data: \_\_/\_\_/\_\_

Por favor, prove a amostra codificada de caldo de cana e indique o quanto você gostou ou desgostou em relação aos atributos descritos, de acordo com a escala abaixo:

**AMOSTRA:** \_\_\_\_\_

<b>Atributo</b>	<b>Valor</b>	
1) Gosto ácido	_____	9- Gostei muitíssimo
2) Gosto doce	_____	8- Gostei muito
3) Impressão global	_____	7- Gostei moderadamente
		6- Gostei ligeiramente
		5- Nem gostei nem desgostei
		4- Desgostei ligeiramente
		3- Desgostei moderadamente
		2- Desgostei muito
		1- Desgostei muitíssimo

O que você mais gostou nesta amostra?

---

---

---

---

O que você menos gostou nesta amostra?

---

---

---

---

**APÊNDICE N – MODELO DA FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL  
UTILIZADA NA AVALIAÇÃO DO PRODUTO APÓS PROCESSO**

Nome \_\_\_\_\_ e mail : \_\_\_\_\_ Data: \_\_/\_\_/\_\_

Você esta recebendo uma amostra de caldo de cana processado (tipo longa vida). Por favor, observe, sintá o aroma e prove a amostra codificada e indique o quanto você gostou ou desgostou em relação aos atributos descritos , de acordo com a escala abaixo:

**AMOSTRA :** \_\_\_\_\_

<b>Atributo</b>	<b>Valor</b>	
1) Aparência	_____	9- Gostei muitíssimo
2) Aroma	_____	8- Gostei muito
3) Sabor (Impressão global)	_____	7-Gostei moderadamente
		6- Gostei ligeiramente
		5- Nem gostei nem desgostei
		4- Desgostei ligeiramente
		3- Desgostei moderadamente
		2- Desgostei muito
		1-Desgostei muitíssimo

O que você mais gostou nesta amostra?

---

---

---

O que você menos gostou nesta amostra?

---

---

---

❖ **Se este produto estivesse disponível no mercado, você :**(assinale com um X)

- ( ) Certamente compraria
- ( ) Provavelmente compraria
- ( ) Talvez compraria / Talvez não compraria
- ( ) Provavelmente não compraria
- ( ) Certamente não compraria

**APÊNDICE O – GARRAFAS DE CALDO DE CANA PROCESSADO APÓS 9 MESES DE ESTOCAGEM**



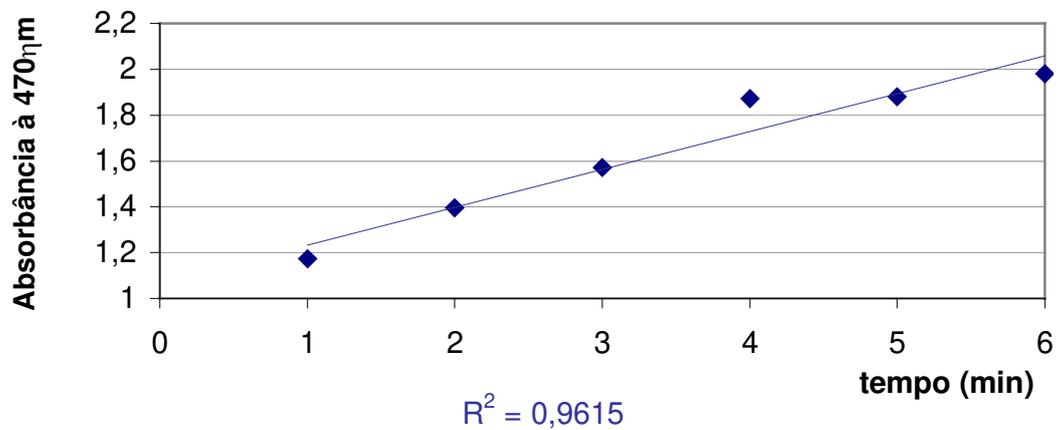
**APÊNDICE P – Moedor de cana com raspador acoplado**



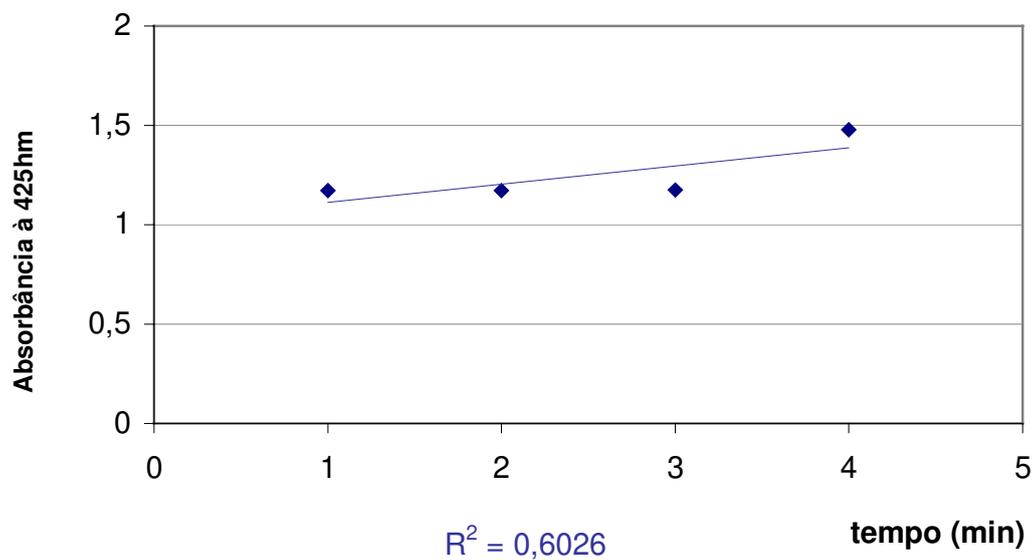
**APÊNDICE Q** - Máquina de envase utilizada no enchimento à quente do caldo de cana.



**APÊNDICE R** – Atividade das enzimas Polifenol oxidase e Peroxidase no caldo-de-cana *in natura*.



**Figura 7.1** – Atividade da enzima *peroxidase* no caldo de cana *in natura*.



**Figura 7.2** – Atividade da enzima PFO no caldo *in natura* em função do tempo.