

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

**ESTUDO DA ESTABILIDADE DE REPOSITOR**  
**HIDROELETROLÍTICO FORMULADO À BASE DE SUCOS**  
**CLARIFICADOS DE ACEROLA E CAJU**

DAISY BLUMENBERG WOLKOFF  
Nutricionista

PROF. DR. ROBERTO HERMÍNIO MORETTI  
Orientador

Dra. VIRGÍNIA MARTINS DA MATTA  
Co-orientadora

Dissertação Apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de DOUTOR em Tecnologia de Alimentos

Campinas/SP  
Outubro, 2004

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

W834e Wolkoff, Daisy Blumenberg  
Estudo da estabilidade de repositores hidroeletrolítico  
formulado à base de sucos clarificados de acerola e caju /  
Daisy Blumenberg Wolkoff . – Campinas, SP: [s.n.], 2004.

Orientador: Roberto Hermínio Moretti  
Co-orientador: Virgínia Martins da Matta  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de  
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Estabilidade. 2.Microfiltração. 3.Sport drink.  
4.Vitamina C. I.Moretti, Roberto Hermínio. II.Matta,  
Virgínia Martins da. III.Universidade Estadual de  
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.  
IV.Título.

CARS-FEA

WOLKOFF, D.B.

ESTUDO DA ESTABILIDADE DE REPOSITOR HIDROELETROLÍTICO  
FORMULADO À BASE DE SUCOS CLARIFICADOS DE ACEROLA E CAJU

Aprovada por:

---

Prof. Dr. Roberto Hermínio Moretti – Orientador

---

Prof. Dra. Silvana Mariana Srebernich

---

Prof. Dra. Helena Maria André Bolini

---

Prof. Dr. Nelson Horacio Pezoa Garcia

---

Prof. Dra. Helena Teixeira Godoy

---

Prof. Dr. Edmar das Mercês Penha

---

Prof. Dra. Marisa de Nazaré Hoelz Jackix

O APRENDIZADO É COMO O HORIZONTE: NÃO HÁ LIMITES  
(provérbio chinês)

In Memoriam

Aos meus pais, Ida Goferman Blumenberg e  
David Blumenberg , pelo exemplo de  
honestidade, dedicação e persistência.  
Com amor, carinho e saudade.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Roberto Hermínio Moretti, pela confiança que depositou em mim desde o ingresso no Doutorado, pelo apoio durante o curso e pela orientação objetiva, segura e paciente.

À pesquisadora Dra. Virgínia Martins da Matta, pela acolhida na Embrapa Agroindústria de Alimentos, pela sugestão do tema deste trabalho, pela amizade incansável e carinho, pelos ensinamentos e orientação, pelo apoio sempre presente, compartilhando tantos momentos difíceis desta caminhada.

Aos professores membros da banca examinadora, pelo aceite e pelas contribuições valiosas a este trabalho.

Ao Sergio, meu marido, pela ajuda, apoio, compreensão, que viabilizaram esta conquista, nos dias felizes e nos dias tristes de nossa vida em comum. À Karen, Carlos e Regina que sempre acreditaram que eu conseguiria.

À Prof. Dra. Gabriela Stangenhauz pela amizade, pelo incentivo em todos os momentos, por não me deixar desistir e por tudo que envolveu estatística nos experimentos finais deste trabalho.

Ao Pesquisador do Itai Antenor Pizzinato, pela amizade e carinho, pela atenção em tantos momentos, pela hospitalidade, pelas sugestões sempre bem-vindas e enriquecedoras.

À companheira de laboratório e planta-piloto em tantos processos e determinações analíticas, Angélica Sabino dos Santos, o que seria de mim sem sua calma, otimismo, amizade e colaboração?

Aos professores e servidores do Departamento de Tecnologia de Alimentos e da Secretaria de Pós-Graduação da FEA, pela ajuda e paciência que me dispensaram, pelo ambiente democrático, facilitador da aprendizagem. Agradeço também à equipe da Biblioteca da FEA, sempre solícita e competente.

À Universidade do Estado do Rio de Janeiro pela possibilidade de crescimento profissional e pessoal.

À Pontifícia Universidade Católica de Campinas, pela oportunidade de capacitação proporcionada pela Carreira Docente.

À Embrapa Agroindústria de Alimentos, pela oportunidade de realização deste trabalho. Aos pesquisadores, e toda a equipe técnica dos laboratórios de cromatografia, análise sensorial, físico-química, microbiologia, que tanto ajudaram durante o longo período que estivemos juntos.

Aos pesquisadores Sônia, Angela, Lourdes, Edmar, pelo apoio, discussões científicas e material disponibilizado, pelo estímulo e amizade, pela confiança, que tornaram possível a conclusão deste trabalho e desta etapa em minha vida. Amaury, Sidnéa, Antônio Xavier, Silvana, Regina Modesta, Suely, Viktor, Ilana tantas solicitações atendidas, tantas sugestões recebidas...

Aos assistentes de pesquisa dos laboratórios e plantas-piloto I e II, que tornaram esta experiência mais amena e proveitosa, também pelas discussões científicas e técnicas, pelo possível e o impossível que fizeram para que eu superasse as dificuldades, pelo bom humor, otimismo, amizade e solidariedade, meus queridos Selma, Flávia, Luiz Fernando, Sérgio (Filé) e Cláudio. Aos estagiários meus colegas e amigos, que tanto colaboraram nos processamentos, nas determinações analíticas, nas discussões dos resultados, nos testes de aceitabilidade, Ingrid, Luciene, André, Lúcia... perdão se não nomeiei alguma pessoa muito especial, sinta-se também abraçada com carinho.

À Laura Abreu, por sua amizade, disponibilidade, carinho e ajuda em muitos momentos de dúvidas, provas e na determinação da osmolalidade dos repositores deste trabalho.

À amiga e companheira de disciplina na Uerj, Prof. Angela Lerner, por toda ajuda nesta fase final e por viabilizar os testes de aceitabilidade em campo, que muito enriqueceram este trabalho.

À amiga Maria Cristina Matoso, pela orientação e revisão das referências bibliográficas, em tantos trabalhos e neste em especial.

À Priscilla do Instituto de Química da Unicamp, pela ajuda na determinação da osmolalidade dos repositores hidroeletrólíticos. Aos Prof. Miekeley e Godoy do Departamento de Química da PUC-RJ pela inestimável ajuda na determinação de cloretos, obrigada à sua equipe, em especial à Walkíria e Álvaro.

Às amigas queridas de todos os momentos, minhas irmãs do coração: Rye, Kátia, Vera, Silvana, Cleide, Betty, Rosaly, Gaby, Rose, Sônia e Bel. Vocês tiveram e têm grande participação e influência em minha vida. Vocês me hospedaram, acolheram, consolaram, estimularam, divertiram, ensinaram, obrigada por estarem sempre ao meu lado.

Aos companheiros do Instituto de Nutrição da Uerj, que acreditaram em mim e tanto colaboraram para que eu finalizasse este trabalho.

Às amigas da Faculdade de Nutrição da PUC-Campinas e da Revista de Nutrição, por tudo que vivemos juntas e por ainda me considerarem uma delas.

A todos os amigos e companheiros da Pós- Graduação, foram tantas disciplinas, seminários, provas, festas, trocas de experiências, apoio nas dificuldades,

alegrias nas conquistas, agradeço a vocês por todas as recordações que levo deste retorno à vida discente. Roberta, Cris, Paulo, Ed, Vi, nosso grupo de estudos, nossa convivência tão especial, a amizade que fortalecemos no dia a dia, são lembranças que levarei comigo para sempre. Valeu a pena, obrigada.

À minha família, por entender minha ansiedade, meu cansaço, meus momentos de desânimo, minha ausência nas atribuições domésticas, enfim pelo apoio que recebi, mesmo quando não pude retribuir à altura das suas expectativas, como filha, mãe, esposa, irmã, tia e prima.

À Mônica, que me entende, apoia, anima, fortalece, mostra caminhos, aponta meus erros, tudo isso em nossos encontros semanais. Eu acreditei, e veja só, consegui, obrigada. À Lúcia responsável pelo meu bem estar, muito obrigada.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b>	xv
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	xix
<b>LISTA DE QUADROS</b>	xxi
<b>RESUMO</b>	xxiii
<b>ABSTRACT</b>	xxv
<b>1 – INTRODUÇÃO</b>	1
<b>2 – REVISÃO DA LITERATURA</b>	7
<b>2.1 – REPOSITORES HIDROELETROLÍTICOS</b>	7
<b>2.2 – EMBALAGENS E VIDA DE PRATELEIRA DE ALIMENTOS E BEBIDAS</b>	21
<b>2.3 – PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS</b>	24
<b>2.4 – PROCESSOS TÉRMICOS E USO DE ADITIVOS</b>	31
<b>2.5 – ACEROLA E CAJU: FONTES DE VITAMINA C</b>	36
<b>3 – MATERIAL E MÉTODOS</b>	45
<b>3.1 – MATERIAL</b>	45
<b>3.1.1 – Matérias primas</b>	45
<b>3.1.2 – Embalagens</b>	45
<b>3.1.3 – Equipamentos</b>	45
<b>3.2 – METODOLOGIA EXPERIMENTAL</b>	46
<b>3.2.1 – Experimentos preliminares</b>	46
3.2.1.1 – Microfiltração das polpas de caju e acerola	46
3.2.1.2 – Definição da mistura de sucos	48
3.2.1.3 – Ensaio de microfiltração da bebida	49
3.2.1.4 – Ensaio para o estudo da estabilidade da bebida	51
<b>3.2.2 – Experimentos finais</b>	53

Processo A	57
Processo B	61
Processo C	63
<b>3.2.3 – Análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais</b>	<b>69</b>
<b>3.2.4 – Análise estatística</b>	<b>73</b>
3.2.4.1 – Testes de preferência	73
3.2.4.2 – Estudo da estabilidade dos produtos obtidos nos processos A, B e C	74
3.2.4.3 – Aceitabilidade dos produtos obtidos nos processos A1, B1 e C1	76
<b>4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>77</b>
<b>4.1 – EXPERIMENTOS PRELIMINARES</b>	<b>77</b>
<b>4.1.1 – Microfiltração da polpas de caju e acerola</b>	<b>77</b>
<b>4.1.2 – Definição de mistura de sucos</b>	<b>80</b>
<b>4.1.3 – Ensaio de microfiltração da bebida</b>	<b>84</b>
Características físico-químicas	84
Desempenho médio dos três processamentos	88
<b>4.1.4 – Ensaio para o estudo da estabilidade da bebida</b>	<b>89</b>
4.1.4.1 – Processo 1	89
Características físico-químicas	89
Desempenho do processo	94
Características do repositório armazenado à temperatura ambiente	95
Características do repositório armazenado sob refrigeração	97
4.1.4.2 – Processo 2	100
Características físico-químicas	100
Características do repositório armazenado sob refrigeração	103

4.1.4.3 – Composição centesimal dos produtos obtidos nos processos 1 e 2	104
<b>4.2 – EXPERIMENTOS FINAIS</b>	<b>106</b>
<b>4.2.1 – Avaliação estatística dos processos A, B e C</b>	<b>106</b>
<b>4.2.2 – Processo A</b>	<b>107</b>
Características físico-químicas	107
Características do repositores armazenado sob refrigeração	109
<b>4.2.3 – Processo B</b>	<b>115</b>
Características físico-químicas	115
Características do repositores armazenado sob refrigeração	117
<b>4.2.4 – Processo C</b>	<b>123</b>
Características físico-químicas	123
Características do repositores armazenado a 25°C	128
<b>4.2.5 – Desempenho dos processos A, B e C</b>	<b>137</b>
<b>4.2.6 – Composição centesimal dos repositores:     processos A, B e C</b>	<b>139</b>
<b>4.2.7 – Aceitabilidade dos repositores</b>	<b>140</b>
<b>5 – CONCLUSÕES E SUGESTÕES</b>	<b>153</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>159</b>
<b>ANEXOS</b>	
Anexo I – Análise de variância ANOVA para o modelo com múltiplos fatores: pH	177
Análise de variância ANOVA para o modelo com múltiplos fatores: sólidos solúveis	177
Anexo II – Análise de variância ANOVA para o modelo com	

múltiplos fatores: turbidez nefelométrica	178
Análise de variância ANOVA para o modelo com múltiplos fatores: $b_{\text{Hunter}}$	178
Anexo III – Análise de variância ANOVA para o modelo com múltiplos fatores: $a_{\text{Hunter}}$	179
Análise de variância ANOVA para o modelo com múltiplos fatores: acidez titulavel	179
Anexo IV – Análise de variância ANOVA para o modelo com múltiplos fatores: $L_{\text{Hunter}}$	180
Análise de variância ANOVA para o modelo com múltiplos fatores: turbidez	180
Anexo V – Análise de variância ANOVA para o modelo com Múltiplos fatores: ácido ascórbico	181
Anexo VI – Níveis de significância do teste de não-aditividade de Tukey para a interação E*T: processo A, B e C	182
Anexo VII – Níveis de significância do fator E: processos A, B e C	183

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1: Proporções dos sucos clarificados de acerola e de caju utilizados nos testes sensoriais I, II e III	49
Tabela 4.1: Características físico-químicas dos sucos clarificados de acerola e de caju	77
Tabela 4.2: Composição em minerais (em mg/100g) e açúcares (em g/100g) dos sucos clarificados de acerola e de caju	78
Tabela 4.3: Médias da preferência de bebida de acerola com caju no teste I	81
Tabela 4.4: Médias da preferência de bebida de acerola com caju no teste II	81
Tabela 4.5: Médias da preferência de bebida de acerola com caju no teste III	82
Tabela 4.6: Valores médios de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez, obtidos nas etapas dos ensaios de microfiltração da bebida	85
Tabela 4.7: Valores médios dos teores de sódio, cloreto, potássio (em mg/100g), glicose, frutose e sacarose (em g/100g), obtidos nos ensaios de microfiltração da bebida	86
Tabela 4.8: Teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez dos produtos nas etapas do processo 1	92
Tabela 4.9: Teores de sais (em mg/100g) e de açúcares (em g/100g) da mistura alimentada e do repositor, no processo 1	93
Tabela 4.10: Comportamento da bebida, quanto aos teores de ácido ascórbico, sólido solúveis, pH e acidez titulável, durante armazenamento sob refrigeração, no processo 1	98
Tabela 4.11: Comportamento da bebida, quanto aos valores de turbidez nefelométrica, luminosidade ( $L_{\text{Hunter}}$ ), $a_{\text{Hunter}}$ , $b_{\text{Hunter}}$ e turbidez durante armazenamento sob refrigeração, no processo 1	99
Tabela 4.12: Características da bebida, quanto aos teores de pH, acidez, ácido ascórbico, sólidos solúveis, no processo 2	101

Tabela 4.13: Teores de sais (em mg/100g) e de açúcares (em g/100g) da mistura alimentada, clarificada e do repositor, no processo 2	102
Tabela 4.14: Análises microbiológicas de bactérias mesófilas aeróbias e de fungos filamentosos e leveduras, do produto obtido no processo 2, durante 30 dias de armazenamento sob refrigeração	104
Tabela 4.15: Composição centesimal dos repositores obtidos nos processos 1 e 2	105
Tabela 4.16: Teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, acidez titulável e pH dos produtos obtidos nas etapas do processo A	108
Tabela 4.17: Teores de sais (em mg/100g) e de açúcares (em g/100g) da mistura alimentada e do repositor, no processo A	109
Tabela 4.18: Comportamento da bebida obtida no processo A, quanto aos teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez titulável durante armazenamento refrigerado, em embalagem de PET	110
Tabela 4.19: Comportamento da bebida obtida no processo A, quanto aos teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez titulável, durante armazenamento refrigerado, em embalagem de vidro	111
Tabela 4.20: Comportamento da bebida obtida no processo A, quanto aos valores de turbidez nefelométrica, luminosidade, $a_{\text{Hunter}}$ , $b_{\text{Hunter}}$ e turbidez, durante armazenamento refrigerado, em embalagem de PET	112
Tabela 4.21: Comportamento da bebida obtida no processo A, quanto aos valores de turbidez nefelométrica, luminosidade, $a_{\text{Hunter}}$ , $b_{\text{Hunter}}$ e turbidez, durante armazenamento refrigerado, em embalagem de vidro	113
Tabela 4.22: Teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, acidez titulável e pH dos produtos obtidos nas etapas do processo B	116
Tabela 4.23: Teores de sais (em mg/100g) e de açúcares (em g/100g) da mistura alimentada, clarificada e do repositor no processo B	117
Tabela 4.24: Comportamento da bebida obtida no processo B, quanto	

aos teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez titulável, durante armazenamento refrigerado, em embalagem de PET	118
Tabela 4.25: Comportamento da bebida obtida no processo B, quanto aos teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis pH e acidez titulável, durante armazenamento refrigerado, em embalagem de vidro	119
Tabela 4.26: Comportamento da bebida obtida no processo B quanto aos valores de turbidez nefelométrica, luminosidade, $a_{\text{Hunter}}$ , $b_{\text{Hunter}}$ e turbidez, durante armazenamento refrigerado, em embalagem de PET	120
Tabela 4.27: Comportamento da bebida obtida no processo B quanto aos valores de turbidez nefelométrica, luminosidade, $a_{\text{Hunter}}$ , $b_{\text{Hunter}}$ e turbidez, durante armazenamento refrigerado, em embalagem de vidro	121
Tabela 4.28: Teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, acidez titulável e pH, dos produtos obtidos na etapas do processo C	125
Tabela 4.29: Teores de sais (em mg/100g) e de açúcares (em g/100g) das misturas alimentada e clarificada, do repositore e do repositore esterilizado, no processo C	126
Tabela 4.30: Valores de turbidez nefelométrica, luminosidade, $a_{\text{Hunter}}$ , $b_{\text{Hunter}}$ e turbidez no repositore e no repositore esterilizado no processo C	126
Tabela 4.31: Comportamento da bebida obtida no processo C, quanto aos teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, acidez titulável e pH, durante armazenamento a 25°C, em embalagem de PET	129
Tabela 4.32: Comportamento da bebida obtida no processo C, quanto aos teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH, acidez titulável durante armazenamento a 25°C, em embalagem de vidro	130
Tabela 4.33: Comportamento da bebida obtida no processo C, quanto aos valores de turbidez nefelométrica, luminosidade, $a_{\text{Hunter}}$ , $b_{\text{Hunter}}$ e turbidez, durante armazenamento a 25°C, em embalagem de PET	131
Tabela 4.34: Comportamento da bebida obtida no processo C, quanto	

aos valores de turbidez nefelométrica, luminosidade, $a_{\text{Hunter}}$ , $b_{\text{Hunter}}$ e turbidez, durante armazenamento a 25°C, em embalagem de vidro	132
Tabela 4.35: Composição centesimal dos repositores obtidos nos processos A, B e C	139
Tabela 4.36: Associação entre o hábito de consumo e o quesito “gostar”	147
Tabela 4.37: Associação entre a intenção de compra e o hábito de consumo	149
Tabela 4.38: Associação entre a intenção de compra dos produtos $A_1$ , $B_1$ e $C_1$ e o quesito “gostar”	151
Tabela 4.39: Valor osmótico dos produtos $A_1$ , $B_1$ e $C_1$	152

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Vaso multipropósito da ARMFIELD, utilizado para o tratamento enzimático da polpa de acerola	55
Figura 3.2. Unidade de microfiltração PROTOSEP IV	55
Figura 3.3. Fluxograma esquemático do processo de obtenção do repositores hidroeletrolítico, com formulação anterior à clarificação (processo A)	58
Figura 3.4. Recolhimento do permeado da microfiltração em sistema fechado	59
Figura 3.5. Câmara de fluxo laminar para envase asséptico com controle automático do enchimento	59
Figura 3.6. Fluxograma esquemático do processo de obtenção do repositores hidroeletrolítico, com formulação posterior à clarificação (processo B)	62
Figura 3.7. Fluxograma esquemático do processo de obtenção do repositores hidroeletrolítico clarificado e esterilizado (processo C)	64
Figura 3.8. Microfiltração da mistura de sucos e água com recolhimento do permeado em sistema aberto, para o processo C	65
Figura 3.9. Esterilização em trocador de calor de superfície raspada	65

Figura 3.10. Envase contínuo na câmara de fluxo laminar para envase asséptico com controle automático de enchimento	67
Figura 4.1. Fluxo de permeado na microfiltração da polpa de acerola	79
Figura 4.2. Fluxo de permeado na microfiltração da polpa de caju	80
Figura 4.3. Fluxo de permeado em função do tempo, nos três ensaios de microfiltração da bebida	89
Figura 4.4. Fluxo de permeado em função do tempo de microfiltração da bebida no processo 1	95
Figura 4.5. Comportamento do fluxo médio do permeado em função do tempo de microfiltração nos processos A, B e C	137
Figura 4.6. Distribuição da frequência do quesito “gostar”: A1, B1 e C1	141
Figura 4.7. Distribuição da frequência do hábito de consumo dos provadores	145
Figura 4.8. Intenção de compra dos produtos A1, B1 e C1	147

## LISTA DE QUADROS

Quadro 4.1. Valores p relativos ao fator tempo (T) no processo A	109
Quadro 4.2. Valores p relativos ao fator tempo (T) no processo B	117
Quadro 4.3. Valores p relativos ao fator tempo (T) no processo C	128

## Resumo

Este estudo teve como objetivo avaliar a estabilidade de um repositor hidroeletrolítico formulado à base de sucos clarificados de acerola e de caju, escolhidos por serem fontes naturais de vitamina C. A partir da formulação, que incluiu os sucos clarificados, nas proporções definidas em testes sensoriais de preferência, água, sacarose, cloreto de sódio e citrato de sódio, foram realizados ensaios preliminares, e três processos finais distintos (A, B e C), para obtenção dos produtos a serem estudados. Para a microfiltração, utilizou-se uma unidade composta por uma membrana tubular polimérica, com 0,3  $\mu\text{m}$  de tamanho médio de poro e 0,05  $\text{m}^2$  de área filtrante. Em todos os processos foram avaliadas a composição físico-química e o teor de ácido ascórbico das bebidas, que variou de 273 a 391  $\text{mg}/100\text{g}$ , dependendo do lote de matéria-prima utilizado. O valor osmótico da bebida obtida no processo A ultrapassou o desejado, mas aquelas obtidas nos processos B e C, respectivamente, 316 e 312  $\text{mOsmol}/\text{L}$ , foram isotônicas. Nos dois primeiros processos (A e B), os produtos obtidos foram armazenados sob refrigeração. No terceiro processo (C), à formulação da bebida foi adicionado um agente conservador e, após tratamento térmico, esta foi armazenada a 25°C. A estabilidade das bebidas, envasadas em embalagens de vidro incolor translúcido e de PET verde, foi acompanhada por 90 dias, em intervalos de 15 dias, avaliando-se seus teores de ácido ascórbico, sólidos totais, pH, acidez, qualidade microbiológica, cor e turbidez. A estabilidade foi alcançada, tanto pela pequena perda de ácido ascórbico (em torno de 13% no processo A, 5% no processo C, e nenhuma perda no processo B), quanto pela maioria das outras variáveis estudadas. Os parâmetros que apresentaram maiores oscilações foram a intensidade da cor vermelha ( $a_{\text{Hunter}}$ ) e a turbidez, embora não perceptíveis visualmente. As análises microbiológicas mostraram, de acordo com a legislação brasileira, que os produtos permaneceram próprios para o consumo durante o período estudado. Ao final do armazenamento a 25°C

a osmolalidade da bebida obtida no processo C sofreu um aumento de 27%, tornando-se ligeiramente hipertônica, possivelmente pela inversão parcial da sacarose em meio ácido. A aceitabilidade da bebida obtida nos três diferentes processos variou de 82% a 91%. A intenção de compra também foi favorável.

WOLKOFF, D. B

STABILITY OF A CARBOHYDRATE AND ELECTROLYTE FLUID-REPLACEMENT SPORT DRINK, FORMULATED FROM NATURAL CLARIFIED CASHEW APPLE AND ACEROLA JUICES

**Abstract**

The purpose of this study was to evaluate the stability of a sport drink obtained from clarified tropical fruit juices. Due to their natural high vitamin C contents acerola and cashew apple were chosen as the beverage basis. Sensorial preference tests defined the best juices blend. A sport drink was developed with the blend of juices plus water, sodium chloride, sodium citrate and sugar. Preliminary tests and three final processes (A, B and C) were conducted in order to obtain clear beverages for shelf-life study. Microfiltration was carried out on a tubular module, presenting a medium pore size of 0,3  $\mu\text{m}$  polymeric membrane, with 0,05  $\text{m}^2$  filtration area. The beverages' physicochemical characteristics were determined in each process and their ascorbic acid values varied from 273 to 391 mg/100g, depending on the fruit lot. The beverages' osmotic values achieved by process A had a higher value than desired, but those obtained by process B and C, achieved 316 and 312 mOsmol/L and were isotonic. In processes A and B the obtained products were stored under refrigeration but in process C they were submitted to thermal treatment plus a preservative which allowed storage at 25°C. The stability of the samples bottled in translucent white glass and green PET were evaluated every 15 days, for 90 days, and vitamin C, soluble solids, titratable acidity, pH and turbidity contents were determined, as well as instrumental color changes and microbiological safety. All products were deemed safe according to Brazilian legislation, and their microbiological stability was preserved during storage period. Small vitamin C losses (13% in process A, 5% in process C and none in process B) and other parameters indicated stability in shelf-life evaluation. Major variations were observed in red color intensity and turbidity, but there were not visible changes. Only the samples stored at 25°C, had a 27% osmolality increase, becoming slightly hypertonic at 90 days,

possibly, due to partial saccharose inversion on acid medium. Beverages' acceptability was evaluated by 100 testers. Their approval rate varied from 82% to 91%, with a favorable purchase intention.

# 1 INTRODUÇÃO

As mudanças ocorridas no estilo de vida das pessoas, desde a Segunda Guerra Mundial, com a utilização de equipamentos domésticos e profissionais que demandam menor esforço físico, a redução da jornada de trabalho, a tendência às atividades sedentárias e o estresse mental, entre outros fatores, levaram a um interesse cada vez maior por atividades que exigem esforço físico, particularmente os esportes. Assim, o mercado tornou-se atraente para os produtos direcionados aos atletas, profissionais e amadores, que buscam atender às suas necessidades específicas, como, por exemplo, uma alimentação adequada para manutenção da saúde, do bem estar e do desempenho esportivo (BLENFORD, 1996).

No Brasil, vem se fortalecendo a consciência ambiental, o culto à saúde e o aumento do consumo de produtos naturais, tal como ocorre nos Estados Unidos, Japão, Europa e em países da América Latina. Entre esses produtos, destacam-se as bebidas *new age*, categoria que abrange ampla variedade de sucos e coquetéis (sem álcool) de frutas, chás prontos para beber e bebidas para esportistas (ISOTÔNICOS..., 1996).

Entre as bebidas desportivas, aquelas que têm como objetivo uma rápida hidratação e a reposição de eletrólitos perdidos pelos atletas, na prática de atividades físicas, têm sido chamadas de isotônicos. Pela legislação brasileira são denominadas repositores hidroeletrólíticos e classificadas como alimentos para praticantes de atividade física. A Portaria não fixa valores de osmolalidade, mas determina que o fabricante deve apresentar uma declaração de que o produto é compatível com sua finalidade de uso, demonstrada através de cálculos e/ou análise laboratorial (BRASIL, 1998).

É importante ressaltar a diferença existente entre os repositores hidroeletrolíticos e os repositores energéticos, termos muitas vezes confundidos pelos consumidores desses produtos. Nos últimos, os carboidratos devem constituir, no mínimo, 90% dos nutrientes energéticos presentes na formulação, podendo opcionalmente conter vitaminas e ou minerais (BRASIL, 1998). São produtos com composição diferenciada e com indicações de uso diferentes. Os energéticos objetivam prioritariamente o alcance e/ou manutenção do nível apropriado de energia dos atletas, são hipertônicos e sua osmolalidade geralmente está em torno de 600 a 700 mOsm/kg.

Existem também outras bebidas referidas fora do Brasil como *energy drinks*, *brain foods*, etc., que são freqüentemente consideradas pelos consumidores como bebidas energéticas. Estão regulamentadas para comercialização, pela Portaria nº 868 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1998b), com a denominação de composto líquido para consumo. Não se enquadram, portanto, no Regulamento técnico dos alimentos para praticantes de atividade física (BRASIL, 1998). Esses compostos, que são prontos para o consumo, caracterizam-se por uma combinação de carboidratos, uma concentração relativamente alta de cafeína e podem conter até 0,5% de álcool.

Os isotônicos ou repositores hidroeletrolíticos surgiram nos EUA, na década de sessenta, quando o médico Robert Cade, da Universidade da Flórida, desenvolveu um soro para aumentar a resistência dos jogadores de futebol americano do time *Gators*, que, na época, estava perdendo muitos jogos. O produto apresentou bons resultados e foi chamado de *Gatorade*, mistura dos

nomes do time e do seu idealizador. Posteriormente, a marca foi adquirida pela empresa *Quaker*.

No Brasil, o *Gatorade* foi lançado em 1988, inaugurando o mercado nacional de isotônicos (FERRAZ, 1998). Passou a ser produzido, em 1995, na fábrica da *Quaker* em Sorocaba, objetivando suprir todo o país. Em 2000, a *PepsiCo* comprou a *Quaker*. Esse investimento foi oportuno, já que o setor de refrigerantes estava perdendo terreno em todo o mundo, ao contrário dos segmentos de águas, sucos e reidratantes (ENERGIA..., 2000). Como a Ambev, desde 1997, já possuía um acordo de franquia com a *PepsiCo*, passou então a produzir, representar e distribuir o *Gatorade* (GATORADE..., 2002). Assim, essa gigante do mercado que já produzia o *Marathon*, passou a deter aproximadamente 90% do mercado nacional de bebidas isotônicas. Movimentará em 2004, 40 milhões de litros/ano o que corresponde a U\$ 56 milhões/ano (ISOTÔNICOS..., 2001; ESTATÍSTICA..., 2002; MERCADO..., 2004).

Este mercado tem se mostrado tão promissor que outras marcas menores têm também seu público, algumas para suprir exclusivamente seus consumidores originais, e outras visando também competir com os consumidores de águas, sucos, refrescos e refrigerantes, como mais uma alternativa disponível no comércio de bebidas em geral.

Nos últimos anos, o consumo de bebidas esportivas tem aumentado expressivamente. Entre 1994 e 1995 as vendas cresceram em torno de 290% (VIGLIO, 1996). Em 1996, foram consumidos 30,7 milhões de litros, 48% a mais que no ano anterior (BEBIDAS..., 1998).

Novos sabores costumam ser lançados a cada verão, época em que se intensifica o consumo desse tipo de produto. Os sabores são os mais variados: tangerina, limão, kiwi, melancia, maracujá, abacaxi, graviola, água de coco, uva, laranja, acerola, cupuaçu, pitanga, açaí, entre outros. A tendência é uma maior diversificação, visando conquistar o público jovem e aqueles que se mantêm em atividade (FERRAZ, 1998).

Paralelo a isso, a escolha de produtos naturais e nutritivos vem se caracterizando como uma tendência de mercado. As frutas tropicais representam uma possibilidade de consumo de aromas e sabores diversos, com grande potencial nutritivo. O consumo de produtos alternativos está ganhando espaço e cada vez mais se consolida a opção por alimentos que apresentem benefícios nutricionais. Além da chamada “geração saúde”, que prioriza o esporte e o consumo de produtos saudáveis, como estilo de vida, há o crescimento da idade da população, que deve buscar uma melhor qualidade de vida através da atividade física e da alimentação adequada.

Os sucos de frutas, assim como as bebidas esportivas tradicionalmente encontrados no mercado, envolvem o uso de tratamento térmico para garantir sua estabilidade microbiológica. As alternativas de sistemas de envase para sucos de frutas e outras bebidas, após o tratamento térmico, são basicamente de três tipos, quais sejam, a bebida pode ser resfriada e envasada à temperatura ambiente, com adição de conservantes; pode ser envasada à quente, com fechamento da embalagem e posterior resfriamento do produto, e pode, ainda, ser resfriada, seguindo-se de envase e fechamento asséptico (PETRUS e FARIA, 1999).

A tecnologia de membrana, tem se mostrado adequada ao desenvolvimento de produtos nutritivos e saudáveis, pelo fato de utilizar processos que ocorrem em condições amenas. Os sucos clarificados obtidos por estes processos apresentam-se na indústria de sucos como uma opção aos produtos integrais convencionais, os quais são submetidos a tratamentos térmicos que garantem a sua qualidade microbiológica, embora possam conferir-lhes o sabor de cozido. A tecnologia de membranas pode também substituir a clarificação convencional de sucos, que utiliza grandes quantidades de terra diatomácea, minimizando assim a geração de resíduos, ecologicamente indesejáveis.

É prática na indústria de sucos, entretanto, após a clarificação com membranas, submeter o produto à pasteurização (PETRUS, 1997), para garantir a sua estabilidade. Esta etapa seria desnecessária, caso se utilizasse uma unidade de envase asséptico acoplada ao sistema de membranas, o que permitiria o armazenamento do produto à temperatura ambiente, ampliando o mercado dos sucos microfiltrados.

A Embrapa Agroindústria de Alimentos tem atuado no estudo da aplicação dos processos de separação por membranas na indústria de alimentos, principalmente para sucos de frutas, água de coco e recuperação de proteínas. O desenvolvimento e o estudo da estabilidade do repositório hidroeletrolítico formulado à base de sucos clarificados de frutas inseriu-se neste foco de atuação, qual seja, o desenvolvimento e/ou adequação de produtos e processos que preservem o valor nutricional dos alimentos e garantam a segurança alimentar do consumidor. A escolha da acerola e do caju, frutas tropicais com alto teor de vitamina C,

pretendeu agregar valor ao produto e estimular o consumo de sucos de frutas, além de atender às necessidades básicas de reidratação na prática esportiva.

Esta bebida, isenta de conservadores químicos quando armazenada sob refrigeração, visou atingir o público que prefere produtos industrializados com o apelo de alternativos, saudáveis e prontos para o consumo.

Por outro lado, nas condições experimentais deste estudo, para que o produto fosse armazenado à temperatura ambiente, foi necessária a utilização de métodos combinados de conservação, associando-se o tratamento térmico ao uso de conservador químico.

O objetivo deste trabalho foi, portanto, estudar a estabilidade de um repositivo hidroeletrólítico formulado à base de sucos clarificados de acerola e caju. Especificamente, pretendeu-se formular o produto; verificar as alterações em sua composição, em todas as etapas de sua elaboração; acompanhar a estabilidade da bebida formulada, obtida em três diferentes processos, e avaliar a aceitação do produto pelos seus consumidores potenciais.

## **2 – REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 - REPOSITORES HIDROELETROLÍTICOS**

Os repositores hidroeletrólíticos, segundo a legislação brasileira (BRASIL, 1998), devem ser formulados a partir de concentração variada de sódio e cloreto associada a concentrações diversas de carboidratos. Opcionalmente, esses produtos podem conter vitaminas, potássio e outros minerais.

Exercícios físicos de grande intensidade e duração requerem que o corpo mobilize energia, estocada sob a forma de carboidratos e gordura, resultando em produção de calor. A temperatura do corpo aumenta e, para evitar um super aquecimento, é produzido o suor para resfriá-lo. A quantidade de suor aumenta progressivamente com a intensidade da atividade física e as condições ambientais tais como temperatura, umidade, radiação solar, vestimenta e outras. Indivíduos que suam intensamente por um tempo prolongado podem desidratar, ocasionando redução de seu desempenho físico e causando danos à sua saúde.

A perda de líquidos e da reserva corporal de carboidratos são as causas principais de fadiga em um exercício prolongado, sendo evidente que as bebidas para desportistas devem conter carboidratos (fonte de energia) e sais minerais, em particular o sódio e devem ser preferidas em comparação à hidratação com água somente. Entretanto, existem limites para essa hidratação, pois a ingestão de grandes volumes de líquido pode levar a transtornos gastrointestinais (FORD, 1995). Assim, o principal propósito de ingerir qualquer bebida imediatamente antes, e durante um exercício físico, é suprir fluidos e energia ao máximo, minimizando porém o risco de desconforto gastrointestinal, já que o objetivo dos

repositores hidroeletrólíticos é de melhorar a taxa de hidratação e retardar a fadiga (BROUNS e KOVACS, 1997).

A ingestão de fluidos com eletrólitos também é importante em muitas situações não esportivas, principalmente em temperatura ambiente elevada, quando há um aumento na ingestão de líquidos (MAUGHAN, 1997).

As qualidades mais importantes para esse tipo de bebida foram resumidas por BURKE e READ (1993), quais sejam: a) permitir um rápido fornecimento de líquidos para os tecidos; b) permitir uma fonte adequada de carboidratos para utilização durante o exercício; c) prover um baixo nível de eletrólitos; d) ser palatável e refrescante durante o exercício e e) não causar problemas gastrointestinais. Estes autores afirmaram ser melhor para os atletas, a fim de evitar a desidratação, planejar uma adequada ingestão de líquidos, de preferência em volumes fracionados, ao invés de confiar na sua própria sede. Segundo os mesmos autores, a utilização de repositores hidroeletrólíticos, após o exercício, pode proporcionar vantagens especiais na recuperação de grandes esforços ou de atividades físicas prolongadas. A boa aceitação dos repositores pode levar a um consumo maior de líquido quando comparado à ingestão de água (BURKE e READ, 1993; MINEHAN *et al.*, 2002).

As bebidas frias adoçadas e de sabor agradável são as preferidas pelas pessoas que praticam esportes (COLEMAN, 1996). O Colégio Americano de Medicina Esportiva recomendou que os líquidos ingeridos nestas situações estivessem mais frios que a temperatura ambiente (entre 15° e 22°C) e adicionados de sabores, para aumentar sua palatabilidade (ARMSTRONG, 2000). De fato, as bebidas frias são mais refrescantes, auxiliam na regulação da temperatura corporal, e na faixa

entre 5°C e 15°C aumentam a mobilidade gástrica acelerando o esvaziamento do estômago (BURKE e READ, 1993; WOLINSKY e HICKSON JR, 1996).

As bebidas isotônicas, denominadas de repositores de carboidratos e eletrólitos por BURKE e READ (1993), devem apresentar o mesmo número de partículas osmoticamente ativas que o plasma sanguíneo, ou seja, ter uma osmolalidade semelhante, de 280 a 300 mOsmol/kg (GUYTON, 1976; HARRISON, 1994; FORD, 1995). Esta característica permite que a bebida seja rapidamente absorvida após o consumo (VARNAM e SUTHERLAND, 1994). Entretanto, pequenas diferenças (30 a 50 mOsmol/L) em osmolalidade de diferentes soluções não apresentam significado clínico relevante, podendo ser consideradas hipertônicas as soluções com osmolalidade superior a 340 mOsmol/L (VIEIRA, 2000), e hipotônicas aquelas com osmolalidade variando de 50 a 250 mOsmol/L (FORD, 1995). Bebidas ligeiramente hipotônicas são mais facilmente absorvidas pelo organismo. Podem estar incluídas nessa classificação as bebidas de baixa caloria e versões *light* das bebidas para desportistas. Este autor exemplifica as bebidas hipertônicas típicas, como os sucos de frutas e os refrigerantes, com osmolalidade na faixa de 600 a 700 mOsmol/L.

BROUNS e KOVACS (1997), comparando valores de osmolalidade de várias bebidas, citaram o *Gatorade* com o valor osmótico de 378 mOsmol/L. COLEMAN (1996) apresentou também um quadro comparativo de bebidas e atribuiu ao *Gatorade da Quaker Brasil* os valores de 280 a 360 mOsmol/L. Portanto, nem todas as bebidas repositoras de eletrólitos e carboidratos (*sport drinks*) são isotônicas, apesar dos consumidores e da mídia terem associado o termo como um sinônimo destes produtos.

BROUNS e KOVACS (1997) consideram uma osmolalidade menor que 500 mOsmol/L mais favorável, para evitar demora no esvaziamento gástrico, assim como recomendam valores menores que 400 mOsmol/L, para facilitar a absorção dessas bebidas. Citam vários estudos em que o conteúdo de carboidratos é considerado o fator de maior influência na taxa de esvaziamento gástrico, quando da ingestão das bebidas para hidratação em situações esportivas.

MAUGHAN e LEIPER (1999), por sua vez, entendem que o esvaziamento gástrico é influenciado principalmente pelo volume do líquido ingerido e por sua densidade calórica. O aumento do volume de líquidos acelera este esvaziamento, enquanto que o aumento de nutrientes tem efeito contrário. Segundo eles, a osmolalidade, a temperatura e o pH, assim como a intensidade do exercício, têm menor importância neste caso. Avaliam também que o volume de líquidos que os atletas ingerem é geralmente menor do que poderiam tolerar. Por isso enfatizam a importância da palatabilidade da bebida e do hábito de ingerir repositores hidroeletrólitos durante os treinos, para educar este comportamento nas competições.

Os exercícios prolongados e extenuantes são dependentes do fornecimento de carboidratos como fonte de energia. Os efeitos benéficos da ingestão de carboidratos são mais evidentes durante os estágios finais da prática de exercícios prolongados, quando há depleção das reservas endógenas desse elemento. Portanto, a ingestão de carboidratos ao final dos exercícios, aproximadamente 30 minutos antes do ponto de fadiga, favorece o seu retardo. Do ponto de vista prático, como os atletas desconhecem suas reservas de carboidratos e seu possível ponto de fadiga, a reposição de carboidratos (e de líquidos) deve se

iniciar cedo e continuar durante todo o exercício (HARGREAVES, 2000). Este autor preconiza a ingestão de 30 a 60 gramas de carboidratos por hora, para melhorar o desempenho atlético.

A indicação de consumo das bebidas repositoras hidroeletrólíticas normalmente se restringe às atividades esportivas com mais de uma hora de duração, ou mesmo com duração maior que 90 minutos. Entretanto vários estudos têm mostrado que estas bebidas podem melhorar a atuação de atletas praticantes de modalidades esportivas intermitentes, com intensidade de moderada a alta e com duração menor que 60 minutos. RYAN (1997) relatou dois experimentos com ciclistas em atividades esportivas com características semelhantes às descritas acima. O fornecimento de bebida esportiva aos atletas, contendo 6% de carboidratos, contribuiu para a melhora do seu desempenho e para retardar a fadiga.

Além disso, o conteúdo em carboidratos é o principal fator para definir a osmolalidade de uma bebida. O tipo de carboidrato também influi, sendo que a glicose e a frutose têm osmolalidade maior que os di e polissacarídeos, como sacarose e maltodextrinas (FORD, 1995).

Para BURKE e READ (1993), soluções de 5% a 10% de glicose, sacarose, polímeros de glicose, ou combinações desses açúcares, têm características de esvaziamento gástrico apropriadas para o fornecimento de fluidos e moderadas quantidades de carboidrato. Quanto à frutose, por seu maior poder edulcorante e por seu metabolismo não-insulino dependente, sugerem que seja adicionada em pequenas proporções às formulações de bebidas esportivas. Seria um recurso para melhorar o sabor dos polímeros de glicose (com pouco sabor doce), evitando-se a ingestão de grandes quantidades que induziriam a distúrbios

gastrointestinais como vômitos e diarreias. A absorção da frutose é mais lenta do que a da glicose, portanto não deve ser a única fonte de carboidratos. Entretanto, pequenas quantidades de frutose combinadas com outros carboidratos como glicose e maltodextrina podem apresentar vantagens metabólicas (HARGREAVES, 2000).

Os produtos disponíveis no mercado podem utilizar uma mistura de glicose e frutose, sacarose e polímeros de glicose (maltodextrinas formadas pela hidrólise controlada do amido), para melhor ajustar a osmolalidade, o conteúdo em calorias e o sabor. Essas bebidas formuladas para atletas devem conter um teor ótimo de 60 a 80 g/L de carboidratos, que também podem ser glicose e/ou sacarose (COLEMAN, 1996; BROUNS e KOVACS, 1997).

Outra abordagem quanto à inclusão de carboidratos na alimentação dos atletas está relacionada com o índice glicêmico dos alimentos (IG) ingeridos. Esse índice classifica os alimentos pela sua resposta pós-prandial sobre a glicemia, comparada com um alimento de referência, que pode ser pão branco ou glicose. Assim, o IG de um alimento representa a magnitude do aumento da glicemia que ocorre após sua ingestão. Esta ferramenta de trabalho tem sido utilizada em nutrição clínica, principalmente para indivíduos diabéticos e nas dietas de controle de peso corporal. Entretanto, o assunto ainda é polêmico. Se os carboidratos são consumidos juntamente com alimentos que contenham proteínas, gorduras e fibras, ocorre uma absorção mais lenta, portanto seu IG tende a baixar (RANKIN, 1997). Porém, considerando que dietas com baixo IG, pela sua absorção mais lenta, parecem reduzir o colesterol sanguíneo e melhorar o controle do apetite,

sua adoção foi recomendada na alimentação diária, tanto para os atletas quanto para os não atletas.

Entretanto, a utilização de bebidas repositoras hidroeletrólíticas com alto IG, como por exemplo, o produto líder de mercado (*Gatorade*), durante e após os exercícios prolongados, pode ser uma boa opção, por elevar rapidamente os níveis de glicemia e fornecer substrato para a síntese de glicogênio (RANKIN, 1997; BURKE, 2001; GRETEBECK *et al.* 2002). Para alguns autores, porém, o IG das bebidas não interfere no desempenho dos atletas durante o exercício extenuante, já que a liberação da insulina pelo pâncreas é retardada com a liberação da epinefrina, induzida pelo esforço no exercício. Antes dos exercícios prolongados, o consumo de alimentos com baixo IG pode promover uma melhor resposta metabólica, mas não necessariamente um melhor desempenho atlético (RANKIN, 1997; GRETEBECK *et al.*, 2002).

Quanto aos eletrólitos, sódio e cloreto, estes estão presentes predominantemente nos líquidos extracelulares, e participam na manutenção da pressão osmótica dos fluidos corporais.

A adição de sódio à água aumenta a absorção de fluidos, além de contribuir também para melhorar a retenção da água no organismo. Estes dois efeitos são importantes, porque uma maior ingestão de fluido e uma menor produção de urina irá resultar numa melhor reidratação durante e após o exercício. Para os repositores hidroeletrólíticos é recomendada a adição de sódio em quantidades maiores que 400 mg/L até o valor ótimo de 600 mg/L (BROUNS e KOVACS, 1997). O Colégio Americano de Medicina Esportiva recomendou, para exercícios com duração maior que uma hora, a adição de eletrólitos, preferentemente cloreto

de sódio (0,5 a 0,7 gramas por litro de água) a essas bebidas, para repor as perdas pelo suor e evitar a hiponatremia, ou seja, baixos teores de sódio no sangue (ARMSTRONG, 2000). A hiponatremia, numa explicação simples, resulta da combinação de retenção anormal de água (retenção excessiva de água pelos rins ou ingestão excessiva de água) e/ou perda excessiva de sódio, geralmente pelo suor (MURRAY *et al.*, 2003).

O conteúdo de sódio no suor é de 413 mg/L a 1091 mg/L. Quanto ao cloreto, esse conteúdo é de 533 mg/L a 1995 mg/L. Potássio, cálcio e magnésio são considerados de pouca representatividade, em comparação ao sódio, haja vista que a reidratação com grandes quantidades de água pode, em exercícios extenuantes e em altas temperaturas, resultar em hiponatremia, mas não em hipocalemia (baixos teores de potássio no sangue) ou hipomagnesemia. A adição de outros eletrólitos às bebidas para hidratação, aparentemente, não traz benefícios significativos no desempenho atlético, podendo, entretanto, ajudar na reposição das perdas ocasionadas pelo exercício e na manutenção das suas funções fisiológicas (BROUNS e KOVACS, 1997).

BURKE (2001) considerou que um conteúdo de sódio da ordem de 50-90 mmol/L seria ótimo para a reidratação pós-exercício, mas os repositores hidroeletrólitos apresentam uma concentração moderada de sódio (10-25 mmol/L), para assegurar sua palatabilidade e o apelo comercial. Recomendou, portanto, um fornecimento adicional de sódio, através de alimentos salgados ou adicionando-se sal às refeições. Desaconselhou o uso de bebidas repositoras hidroeletrólíticas contendo álcool (mais que 4%) e cafeína, pois estas substâncias promovem um aumento na taxa de diurese.

Um estudo conduzido por LESHEM e WALD (2003), com participantes de ambos os sexos após 90 minutos de atividade física aeróbica, sugeriu que a preferência pelo sabor salgado é diretamente proporcional à quantidade de suor perdido nos exercícios. Assim como BURKE (2001), verificaram, que, dependendo da intensidade da sudorese, a reposição de sal necessária pode exceder às concentrações encontradas nos repositores hidroeletrólíticos.

Potássio é o ion mais encontrado nos fluidos intracelulares e, assim como o sódio, está largamente combinado ao cloro, também contribuindo para a manutenção da pressão osmótica e balanço ácido-básico. MAUGHAM (1997) sugere a inclusão de potássio nas bebidas consumidas após sudorese intensa, para aumentar a retenção de água no espaço intracelular, o que, BROUNS e KOVACS (1997) também sugerem, numa concentração máxima de 225 mg/L. Por sua vez, FORD (1995) recomenda que a ingestão de potássio após os exercícios seja feita pela adição de suco de frutas às bebidas para desportistas. Nesse caso, o efeito do suco de frutas sobre a osmolalidade da bebida também deve ser considerado.

A adição de cloreto de sódio como única fonte de sódio produz um sabor salgado no produto. A utilização de outros sais sódicos permitidos pela legislação é indicada para uma melhor palatabilidade da bebida. SREBERNICH (1998), ao formular uma bebida similar à água de coco, relatou a necessidade de adicionar o sódio na forma de citrato de sódio, fosfato monobásico de sódio, além de cloreto de sódio, para que o produto não fosse rejeitado pelo seu sabor salgado. O citrato de sódio, além de ser fonte de sódio, é importante na formulação pelo seu efeito regulador de acidez. O equilíbrio entre a eficácia e o sabor deve ser perseguido

para se obter uma boa aceitação da bebida pelos consumidores, principalmente os atletas e praticantes de atividades físicas.

À carência de magnésio se atribuem deficiências no metabolismo energético, maior fadiga e câibras musculares. Entretanto, nas grandes perdas diárias pelo suor, não há depleção em pessoas bem nutridas, não havendo portanto indicação de sua reposição em bebidas esportivas (FORD, 1995). BROUNS e KOVACS (1997) admitiram a adição máxima de 100 mg/L.

O cálcio encontra-se em maior proporção no esqueleto. Somente 1% está nos fluidos extracelulares e em outros tecidos. Durante o exercício o cálcio tem papel essencial, por iniciar a contração muscular. Mesmo que um esforço físico intenso possa provocar perda de cálcio no suor, esta pode ser recuperada com a ingestão dos alimentos lácteos usuais da dieta. A inclusão desse mineral em bebidas pode ser positiva quando há uma diminuição da sua ingestão, ou em estados patológicos, em que o metabolismo do cálcio esteja prejudicado. Em particular, pode ser apropriado em produtos de baixas calorias, dirigidos a mulheres ativas. BROUNS e KOVACS (1997) indicaram um valor máximo de 225 mg/L de cálcio em repositores.

É sabido que muitas vitaminas têm papel importante no metabolismo energético e que sua deficiência pode afetar o desempenho dos atletas. As recomendações dietéticas expressas no *Recommended Dietary Allowances* - RDA (NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 1989) são indicadas para grupos populacionais e não especificamente para indivíduos sob treino pesado. Ainda assim, BURKE e READ (1993) consideraram que, sob o ponto de vista fisiológico, a suplementação de vitaminas somente deve ser indicada quando existe uma deficiência nutricional

comprovada ou para alcançar as doses recomendadas pela RDA. Os atletas não necessitam de suplementos vitamínicos e minerais, se o consumo de alimentos supre as necessidades energéticas para manter seu peso corporal. Entretanto, aqueles que estejam restringindo seu consumo calórico, utilizando práticas drásticas para perda de peso, eliminando um ou mais grupos de alimentos de sua dieta, ou mesmo consumindo dietas com altas taxas de carboidratos, com baixa densidade de micronutrientes, podem realmente precisar desses suplementos (POSITION..., 2000).

Dessa forma, embora existam repositores hidroeletrólíticos no mercado com adição de vitaminas, não parece haver comprovação científica de sua necessidade. Entretanto, bebidas com frutas em sua composição são naturalmente fonte de vitaminas. Por isso, podem ser valorizadas pelos consumidores, pois oferecem as características dos repositores, agregadas às vantagens dos sucos de frutas.

Quando vitaminas são adicionadas às bebidas para desportistas, os limites do IDR (ingestão diária recomendada) devem ser observados. Segundo a Portaria nº 222 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1998), vitaminas e sais minerais podem ser adicionados até o limite de 7,5% a 15% da IDR em 100 mL e 15% a 30% da IDR em 100 g, desde que o consumo diário não ultrapasse a 100% da IDR em qualquer situação. No caso dos repositores com sucos de frutas naturais, não há determinação legal para valores máximos de vitaminas em sua composição, uma vez que não se trata de suplementação ou fortificação de alimentos.

O volume recomendado para ingestão de fluidos varia em função do esporte e das condições climáticas. Por exemplo, a capacidade de ingestão de líquidos difere

para ciclistas e corredores em provas intensas, assim como um corredor de maratona em clima frio necessita de menores volumes de líquidos do que aquele em clima quente. BROUNS e KOVACS (1997) reportaram que é melhor ingerir regularmente 200 mL a 250 mL a cada 20 a 30 minutos do que volumes menores a intervalos menores. Comentaram, porém, que se os ciclistas podem ingerir tais volumes sem problemas, corredores podem sentir mais problemas gastrointestinais. O Colégio Americano de Medicina Esportiva recomendou, para exercícios com mais de uma hora de duração, a ingestão de 600 a 1200 mL por hora de soluções contendo 4% a 8% de carboidratos, devendo ser ingeridos durante a atividade física (ARMSTRONG, 2000). BURKE (2001) sugeriu a reposição de 150% dos líquidos perdidos pelo suor, para que a recuperação hídrica fosse completa.

A Associação Americana de Dietética, em documento firmado conjuntamente com as Nutricionistas do Canadá e com o Colégio Americano de Medicina do Esporte (POSITION..., 2000), afirmou que o consumo de bebidas esportivas contendo carboidratos e eletrólitos, durante o exercício, gera combustível para os músculos, ajuda a manter a taxa de glicemia e o mecanismo da sede, assim como diminui o risco de desidratação e hiponatremia.

A realização regular de exercício físico, a uma intensidade média-alta (60% a 70% da capacidade aeróbica máxima ou  $VO_2max$ ), conduz a uma série de alterações metabólicas e fisiológicas, que marcam as diferenças nutricionais com relação às pessoas sedentárias. GONZÁLEZ-GROSS *et al.* (2001) citaram que, dependendo da duração e intensidade do treinamento, os atletas podem planejar sua dieta considerando a ingestão de 45-50 kcal/kg de peso corporal/dia, sendo que em

períodos de treinamento mais pesado, ou mesmo em competições, o valor energético da dieta poderá chegar a 6000-7000 kcal/dia. Segundo eles, as porcentagens de macronutrientes não se diferenciam da recomendação geral, ou seja, 55% a 60% de carboidratos, 10% a 15% de proteínas e 20% a 25% de gorduras. Nas fases de maior treinamento, a porcentagem de carboidratos deve ser aumentada para 65% a 70%. Insistem que, mantendo o aporte calórico adequado, os macro e micronutrientes estarão automaticamente ajustados. Ressalvam, porém, como exceções, os atletas que precisam manter o peso baixo, pela prática de alguma atividade física específica (patinadores, ginastas, bailarinos, etc). Estes devem, por conseguinte, preferir dietas com alta densidade de micronutrientes, ou suplementá-los, se a ingestão dos alimentos não for suficiente para tal. Esses autores adaptaram a pirâmide alimentar às necessidades dos atletas, e inovaram quando, na base da pirâmide, incluíram a água (no mínimo 2 litros de água ou bebidas hidratantes), destacando o papel da hidratação adequada, pela sua importância para aqueles que praticam atividades físicas.

Numa abordagem inovadora, a utilização de repositores hidroeletrólíticos durante o trabalho de parto foi avaliada por KUBLI *et al.* (2002). Os autores compararam os efeitos metabólicos decorrentes do fornecimento desta bebida e do fornecimento de água. Sessenta mulheres em início do trabalho de parto fizeram parte do estudo. Concluíram que, metabolicamente, a ingestão do repositores foi melhor do que a ingestão da água, representando uma alternativa nutricional, já que os alimentos sólidos são proibidos nesse momento. Recomendaram, a partir dos resultados, que as parturientes pudessem beber os repositores

hidroeletrolíticos com segurança, durante o trabalho de parto, desde que não tivessem recebido opióides via parenteral.

BURKE e READ (1993) classificaram os repositores hidroeletrolíticos como suplementos alimentares, já que se destinam a um público específico e objetivam a melhora do desempenho dos atletas (profissionais ou recreacionais). BELLO (1995) citou o *Gatorade* como parte da primeira geração de alimentos especificamente desenhados, a fim de oferecer um efeito terapêutico. Naturalmente, as pretensões terapêuticas dos repositores hidroeletrolíticos são muito limitadas, mas, segundo esse autor, representam um exemplo de alimento funcional que alcançou uma grande aceitação entre os consumidores.

Para PETRUS (2000), a fabricação de bebidas repositoras de fluidos é uma questão de mistura de ingredientes. Essas bebidas encontram-se disponíveis no mercado na forma de pós, concentrados ou prontas para o consumo. Considerando-se o rótulo das embalagens, os ingredientes contidos são, geralmente, água desmineralizada, carboidratos, aromatizantes, sais minerais e, em algumas marcas, vitaminas, edulcorantes, corantes, antioxidantes e conservadores químicos. Como os minerais adicionados à água desmineralizada dissolvem-se completamente, quando não se deseja um produto límpido, pode ser adicionado um agente turvador (SREBERNICH, 1998).

Na formulação dos repositores hidroeletrolíticos, a água de produção é a principal matéria-prima, em termos quantitativos, devendo seu controle de qualidade ser o mais criterioso possível. A necessidade de ausência de cloro na água de produção se justifica por sua ação oxidante, que tende a gerar odores e/ou sabores desagradáveis. A contagem de bactérias e fungos é extremamente importante

nesta etapa do processo produtivo, pois a água sem cloro está desprotegida. Além disso, pode haver crescimento microbiano nos filtros (de material particulado ou carvão ativado) utilizados no tratamento da água de consumo. A água a ser empregada no preparo dessas bebidas deve, de preferência, ser desmineralizada, visto que a presença de certos minerais pode interferir na cor e no sabor da bebida, além de alterar a osmolalidade da mesma (FORD, 1995).

Quando o repositores hidroeletrolítico é apresentado sob a forma de pó, os ingredientes são adicionados também em pó. Quando se trata de produtos em pó ou de preparados líquidos concentrados, os aditivos utilizados para cada função deverão considerar, quando prontos para o consumo, os limites estabelecidos na legislação (BRASIL, 1999). Os produtos em pó oferecem a facilidade de transporte e estocagem, em contrapartida, exigem que haja disponibilidade de água potável para sua reconstituição.

## **2.2 – EMBALAGENS E VIDA-DE-PRATELEIRA DE ALIMENTOS E BEBIDAS**

Os processos de acondicionamento de um produto visam ao aumento do seu tempo de vida útil nas prateleiras. Os repositores hidroeletrolíticos podem ser acondicionados em embalagens flexíveis auto-sustentantes do tipo *cheer pack*, formadas a partir de filmes laminados compostos de quatro materiais diferentes: poliéster na parte externa, alumínio (barreira ao oxigênio), náilon (resistência) e polietileno no interior, no canudo e na tampa; em latas de alumínio; copos de polipropileno; laminados cartonados; polietileno tereftalato (PET) e vidro. Até o ano de 1988, a maioria dessas bebidas era comercializada em garrafas de vidro, com tendência para expansão do uso de garrafas plásticas, especialmente o PET (PETRUS, 2000).

As embalagens proporcionam uma barreira ao oxigênio. Esta barreira depende da permeabilidade do material utilizado, assim como das regiões de fechamento ou das dobras desse material. Além disso, o tamanho e o formato das embalagens também interferem na estabilidade do produto (FARIA, 1993).

Várias são as vantagens das embalagens de PET: transparentes, leves, resistentes aos choques e à pressão interna, 100% recicláveis. O PET convencional (monocamada), entretanto, resiste até, aproximadamente, 70°C, dependendo do formato, peso da embalagem e grau da resina utilizada, inviabilizando o seu uso em sistemas de enchimento a quente. Além disso, o PET não é totalmente impermeável ao oxigênio (PIERGIOVANNI, 1998). As trocas gasosas nas garrafas de PET podem ser minimizadas com a adoção de *spots* de alumínio, como um cuidado adicional no fechamento das embalagens.

O vidro, por sua vez, é impermeável às trocas gasosas, sendo que mudanças de cor ou sabor podem ocorrer pela reação com o oxigênio residual no produto, no espaço livre, ou por defeitos no sistema de fechamento da embalagem (ELLIS, 1996). Mesmo sendo mais pesado e menos resistente aos choques do que o PET, o vidro se apresenta como uma boa opção de embalagem, principalmente por representar um apelo ecológico mais convincente, sendo indicado para produtos consumidos por um público diferenciado. Ironicamente, enquanto a maioria dos fabricantes de sucos, molhos para saladas, óleos vegetais, alimentos infantis, mostardas e outros, têm adotado embalagens de PET, os produtos de alta qualidade (*premium choice*), como ingredientes utilizados em alta gastronomia, óleos de semente de uva, óleos de amêndoa, molhos de chocolate, enfim,

produtos mais sofisticados, têm sido oferecidos em embalagens de vidro (SLOAN, 2003).

A estabilidade de um produto, ou seja, sua vida-de-prateleira, é o tempo que, em determinadas condições, corresponde a uma tolerável diminuição da qualidade de um alimento acondicionado em uma determinada embalagem (PIERGIOVANNI, 1998).

Alterações de causas físicas, químicas e microbiológicas são determinantes para a deterioração dos alimentos. Durante a estocagem e distribuição, os alimentos estão expostos a várias condições ambientais tais como temperatura, umidade, oxigênio e luz, que podem deflagrar as reações que levam à sua degradação. No limite, esses produtos podem estar alterados ao ponto de serem rejeitados pelos consumidores ou de representar um perigo para a saúde. Nos estudos de vida-de-prateleira, torna-se importante medir a variação de um dado atributo de qualidade, que seja especial para o apelo comercial de um determinado produto. Por exemplo, o teor vitamínico de um alimento pode ser invalidado, dependendo do grau de sua perda durante a estocagem (SINGH, 1996).

Relacionando os fatores que influenciam a estabilidade dos alimentos processados, FARIA (1993) citou a temperatura de armazenamento, a concentração de oxigênio no produto embalado, a capacidade de barreira a gases e ao vapor d'água e o formato da embalagem, como sendo os de maior relevância. Ressaltou que, dependendo da atividade de água e da temperatura, as transformações decorrentes da proliferação de microrganismos podem ocorrer mais rapidamente que as outras alterações nos alimentos, sendo aquelas mais evidenciadas do que as alterações de ordem enzimática ou química, podendo

resultar na formação de gases, de compostos voláteis e de substâncias tóxicas, assim como na acumulação de focos de microrganismos, como bolores e leveduras. A temperatura foi considerada o fator ambiental que mais afeta a conservação dos alimentos durante a estocagem. Todas as alterações de natureza biológica ou físico-química apresentam taxas de transformações que variam com a temperatura a que o produto é submetido. Além disso, foi enfatizado que o sabor, o aroma e a aparência são, também, critérios para a determinação da estabilidade, considerando que, quando a microbiota de um alimento se desenvolve e metaboliza os nutrientes disponíveis no meio, sua qualidade sensorial também se altera.

Para MAN (2002), a necessária avaliação sensorial de um alimento, como um dos fatores para definição da sua vida-de-prateleira, tem como premissa a sua segurança microbiológica, como garantia aos provadores.

ELLIS (1996) enfatizou a necessidade de se submeter as amostras do produto para estudo de vida-de-prateleira às mesmas condições de sua estocagem e distribuição, simulando situações reais de comercialização. Como regra geral, esse autor afirma que, para a determinação da vida-de-prateleira, as amostras devem ser avaliadas em, pelo menos, seis tempos.

### **2.3 – PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS**

A tecnologia de separação por membranas baseia-se no princípio de que componentes de misturas líquidas ou gasosas, de acordo com suas características moleculares, podem passar seletivamente através de uma determinada membrana, movidos por uma força motriz que varia segundo os diferentes processos. Membranas podem ser definidas, então, como barreiras

seletivas ao transporte de matéria e energia entre duas fases; são utilizadas em processos de separação visando o fracionamento dos componentes de uma mistura, em função de suas diferentes taxas de permeação (MULDER, 1991).

A microfiltração, a ultrafiltração e a osmose inversa são os processos com membranas de maior interesse na indústria de alimentos atualmente. Os dois primeiros processos diferem, basicamente, no tamanho médio dos poros das membranas utilizadas, requerendo faixas de pressão operacional distintas. Na osmose inversa as membranas são densas e o transporte se dá pelo mecanismo de sorção-difusão. Enquanto na microfiltração são utilizadas pressões da ordem de 1 a 5 atm, na ultrafiltração podem chegar até 12 atm. Na osmose inversa os processos ocorrem a pressões de até 80 atm, pois ao contrário do que ocorre na natureza, o solvente atravessa a membrana na direção do lado menos concentrado, requerendo que a pressão aplicada seja superior à pressão osmótica da solução (MATTA, 1999).

Nos processos de separação com membranas o processamento pode ocorrer por filtração em profundidade (*dead-end*), ou filtração tangencial (paralela) à superfície da membrana (*cross-flow*). A filtração tangencial minimiza o acúmulo das espécies rejeitadas pela membrana, resultando em maiores taxas de permeação em comparação com a filtração em profundidade (TODISCO *et al.*, 1996).

As características mais importantes das membranas são: a permeabilidade, ou seja, a capacidade do solvente de atravessar a membrana, em função da pressão aplicada; a seletividade, que está relacionada com o diâmetro médio dos poros e o tamanho e a forma das moléculas que podem atravessar a membrana; a porosidade, que diz respeito à “quantidade de vazios” na estrutura da membrana,

sendo a relação entre a parte sólida da membrana e os seus poros; e a compatibilidade do material da membrana com os componentes com os quais tem contato, sejam as substâncias do processo, ou os produtos da sanitização (PETRUS, 1997; CHERYAN, 1998).

A eficiência de uma determinada membrana depende de dois parâmetros: seletividade e fluxo através da membrana (permeabilidade). Este último, também chamado de taxa de permeação, é definido como o volume (ou massa) que flui através da membrana por unidade de área e tempo. A seletividade de uma membrana, frente a uma mistura, é geralmente expressa por dois parâmetros: a retenção e fator de separação. O valor da retenção varia de 0 a 100%, quando ocorre uma completa remoção do soluto. O fator de separação, que significa a relação entre as concentrações dos diversos componentes no permeado e as concentrações dos mesmos na corrente de alimentação, deve ser maior que um, para que ocorra a separação desses componentes (MULDER, 1991). Em escala industrial são preferidas as membranas que apresentem altas taxas de fluxo, sem detrimento de suas propriedades seletivas (PETRUS, 1997).

Quanto à morfologia as membranas podem ser simétricas ou assimétricas, densas ou porosas. Quanto à sua natureza as membranas podem ser naturais ou sintéticas. As sintéticas podem ser orgânicas (poliméricas e líquidas) ou inorgânicas (cerâmicas) (PETRUS, 1997; CHERYAN, 1998).

As membranas utilizadas nos processos de microfiltração são porosas, com estrutura simétrica (GIRARD e FUKUMOTO, 2000). São sintéticas, podendo ser poliméricas ou cerâmicas e o tamanho seus poros está na faixa de 10 a 0,05  $\mu\text{m}$ . Em geral, as partículas suspensas, os colóides e as bactérias ficam retidos,

enquanto que as macromoléculas e os sólidos dissolvidos passam através dessas membranas (NEVES, 1999).

Existem no mercado quatro configurações de sistemas com membranas, quais sejam, tubular, quadro e placas, espiral e fibra-oca, cada qual com aplicação específica.

Os principais problemas que ocorrem na utilização de sistemas com membranas são o entupimento e a polarização da concentração, cuja consequência é a redução do fluxo de permeado, podendo alterar a qualidade do produto final. Estes problemas podem ser evitados pelo controle das condições operacionais, como a velocidade de circulação, a temperatura, a pressão e a concentração da solução a ser separada (MULDER, 1991).

A garantia das condições higiênico-sanitárias da membrana se dá pelos procedimentos de limpeza e sanitização, conforme recomendação dos fabricantes, antes e após cada processo. A importância tecnológica desse processo de sanificação é a restauração da capacidade de filtração da membrana.

O baixo consumo de energia em comparação com processos convencionais, a facilidade de combinação entre os processos com membranas e outros de separação, a facilidade de escalonamento, as condições brandas em que são realizados, e a possibilidade de se projetar e ajustar as características das membranas para separações específicas, são as vantagens da utilização dos processos com membranas. Como desvantagens, podem ser apontadas a redução do fluxo durante o processo pelos fenômenos de polarização de concentração e *fouling*, pelo acúmulo de soluto, adsorção e entupimento; a necessidade de se manter a alta seletividade da membrana aliada a um alto fluxo

de permeação, muitas vezes difícil de se alcançar; e o alto custo de reposição das membranas (CABRAL, 2000).

Entre as aplicações dos processos de separação com membranas na indústria de alimentos podem ser destacadas: clarificação e estabilização de bebidas; recuperação de óleos essenciais de cítricos; concentração de aromas; clarificação e concentração de sucos de frutas; e, na indústria de laticínios, para a concentração de soro de leite e fabricação de queijo (MORETTI, 1973; CABRAL, 1998; EMBRAPA, 2000; MATTA *et al.*, 2000b; RODRIGUES *et al.*, 2001).

A clarificação enzimática de sucos associada ao processo de microfiltração apresenta como vantagens a eliminação completa do uso de terra diatomácea, reduzindo o problema de tratamento de rejeitos; o aumento da qualidade do suco, pela diminuição da sua turbidez; a pasteurização a frio do produto; o aumento do rendimento do processo; a redução dos custos fixos, pelo menor investimento em tanques; a facilidade de redução ou ampliação de escala e a possibilidade de recuperação da enzima, de modo que esta possa ser reutilizada em outro processo de clarificação, reduzindo desta forma o seu consumo total (BRESLAU *et al.*, 1984; KOSEOGLU *et al.*, 1990).

A maior parte dos trabalhos sobre clarificação de bebidas reportados na literatura refere-se ao suco de maçã, provavelmente por ser utilizado em escala industrial. Muitos trabalhos mais recentes mostram processos com membranas nos quais a microfiltração ou a ultrafiltração é combinada à concentração dos sucos clarificados bem como à recuperação de aromas pela pervaporação (PEREIRA *et al.*, 2002; CASSANO *et al.*, 2003; RODRIGUES *et al.*, 2003; JIAO *et al.*, 2004).

Com o propósito de investigar a influência do tratamento enzimático no comportamento do fenômeno do entupimento (*fouling*) durante a clarificação de sucos de maçãs *Red Delicious* e *McIntosh*, YU e LENCKI (2004) submeteram ambos os sucos a quatro tratamentos, quais sejam, aquecimento (suco controle) a 40°C por 50 minutos (*McIntosh*) e 30 minutos (*Red Delicious*) e tratamento enzimático com pectinesterase (PE), pectinoliase (PL) e poligalacturonase (PG). O suco de maçã *McIntosh* sem pré-tratamento enzimático, quando microfiltrado, apresentou um fluxo de permeado mais baixo do que o suco controle de maçã *Red Delicious*. A adição das enzimas poligalacturonase e pectinoliase provocou o aumento do fluxo até o valor daquele obtido com o suco controle. Comportamento contrário ocorreu quando a enzima adicionada aos dois tipos de suco foi a pectinesterase, com a produção de uma camada limite e uma resistência ao escoamento mais alta que a dos sucos controle. Os autores obtiveram as mais baixas resistências específicas com a combinação das enzimas PG ou PL com a PE, que formaram um gel de alta porosidade.

BRUIJN *et al.* (2002) estudaram o desempenho de membranas de óxido de zircônia (15 kDa e 50 kDa) na ultrafiltração do suco de maçã. Determinaram os efeitos da velocidade tangencial, pressão transmembrana e peso molecular de corte (MWCO) sobre o fenômeno do entupimento das membranas, o fluxo de permeado e a qualidade do suco obtido. Verificaram que a condição ótima para minimizar o entupimento foi a pressão transmembrana mais baixa (150 kPa) e a velocidade de alimentação mais alta (7 m/s). Por outro lado, as condições de pressão transmembrana mais alta (400 kPa) e velocidade tangencial mais baixa (2 m/s) proporcionaram um fluxo mais alto por unidade de energia consumida,

chegando a  $60 \text{ m}^3/\text{kWhm}^2$ , entretanto este resultado foi 35% mais baixo do que o esperado, em função do severo entupimento dos poros. Concluíram que o entupimento dos poros e a permeação não apresentaram uma relação direta. Em comparação com a filtração convencional, a ultrafiltração apresentou melhores resultados quanto às especificações comerciais da indústria chilena de sucos.

Objetivando a obtenção de suco de abacaxi concentrado utilizando a osmose inversa associada à microfiltração, SÁ *et al.* (2003) pré-trataram o suco com dois preparados enzimáticos com atividades pectinolítica e celulolítica. O suco microfiltrado em um sistema de membranas tubulares de polietersulfona apresentou resultados favoráveis em todos os parâmetros estudados, não havendo diferença significativa quanto aos teores de sólidos solúveis, acidez e açúcares entre o suco hidrolisado e o suco clarificado. O suco clarificado foi concentrado até  $31^\circ\text{Brix}$  verificando-se um efeito positivo da pressão transmembrana (20, 40 e 60 bar) sobre o fator de concentração, sendo que à maior pressão correspondeu o maior fator de concentração.

Para obter um suco de maracujá clarificado, VAILLANT *et al.* (1999) combinaram um pré-tratamento enzimático conjugado à microfiltração utilizando membranas cerâmicas com  $0,2 \mu\text{m}$  de tamanho de poro. Foi observado um efeito sinérgico entre as enzimas com atividades de pectinase e celulase, que aumentaram o fluxo do permeado. Operando em sistema fechado, com recirculação das duas correntes, à temperatura de  $36^\circ\text{C}$ , a combinação de uma baixa pressão transmembrana (150 kPa) e uma alta concentração de enzimas (1 mL/L) proporcionaram o fluxo mais alto ( $113 \text{ L/hm}^2$ ).

A ultrafiltração de suco de laranjas mediterrâneas frescas e de suco de limão foi estudada utilizando-se diferentes tipos de membranas (cerâmicas e poliméricas) e configurações (tubular, plana e fibra oca). De um modo geral, a qualidade do suco clarificado foi considerada boa. A polpa, a pectina e os óleos essenciais foram quase que completamente retidos pelas membranas nos dois sucos estudados. Os autores concluíram que os resultados obtidos indicaram uma boa oportunidade de introduzir a ultrafiltração no processamento das frutas cítricas no Mediterrâneo, possibilitando produtos clarificados com melhores qualidades sensoriais (CAPANNELLI *et al.*, 1992).

#### **2.4 - PROCESSOS TÉRMICOS E USO DE ADITIVOS**

O objetivo da pasteurização é eliminar os microrganismos patogênicos vegetativos, inativar enzimas e reduzir os microrganismos deteriorantes a níveis baixos, não sendo efetiva na destruição de esporos. Na pasteurização de produtos de alta acidez ( $\text{pH} < 4,5$ ), como os sucos de frutas ou as bebidas à base de frutas, pretende-se a destruição de fungos filamentosos e leveduras, bactérias lácticas ou acéticas e, em alguns casos, de fungos termorresistentes. As temperaturas empregadas neste tipo de tratamento térmico estão abaixo de  $100^{\circ}\text{C}$  (SILVA, 2000). Como complemento ao tratamento térmico, podem ser adicionados agentes conservadores como os benzoatos. Geralmente a vida-de-prateleira dos produtos pasteurizados e refrigerados é curta, de sete a dez dias. Entretanto, a utilização de sistemas assépticos pode estender esse período de armazenamento (LEWIS e HEPPELL, 2000).

Para estudar a qualidade de sucos de laranja pasteurizados, acondicionados em embalagem *Tetra Rex*, e armazenados sob refrigeração, LIMA *et al.* (2000)

avaliaram três diferentes marcas. As amostras foram mantidas sob refrigeração até um período próximo ao término do prazo de validade (quatro semanas). Foram determinados os teores de vitamina C e o valor do pH. Em todas as amostras os teores de vitamina C atenderam à legislação vigente e o pH variou de 3,6 a 3,9. Incubando as amostras durante dez dias à temperatura de 35°C, verificaram que apenas um dos produtos apresentou sinais de deterioração, sugerindo processo fermentativo e indicando falhas no processamento. Concluíram que o processamento asséptico associado ao armazenamento refrigerado, permitiu a preservação dos teores de vitamina C nos produtos avaliados.

Embora não haja dados oficiais, pôde-se conferir as condições de tratamento térmico utilizadas em produtos comerciais de marcas consagradas. Para sucos ou bebidas ácidas, envasados assepticamente em embalagens *Tetra Brik* e armazenados à temperatura ambiente, a indústria utiliza binômios tempo/temperatura que variam de 95-98°C/30s a 95-105°C/15-30s, dependendo do fabricante. Em alguns desses produtos, como o néctar de caju, a adição de agente conservador, está informada na embalagem.

POLYDERA *et al.* (2003) compararam a vida-de-prateleira e as perdas de vitamina C de sucos de laranja submetidos à alta pressão (500 MPa, 35°C/5min) e à pasteurização convencional utilizada pela indústria (80°C/30s), concluindo que o tratamento a alta pressão foi mais efetivo na conservação do ácido ascórbico, nas amostras armazenadas nas temperaturas de 0 a 15°C, o mesmo ocorrendo com a vida-de-prateleira. A avaliação sensorial, realizada imediatamente após os tratamentos para conservação do suco, foi mais favorável em termos da manutenção das características originais do produto, para as amostras

submetidas à alta pressão. Isto também ocorreu no estudo da vida-de-prateleira, nas temperaturas de 0, 5, 10 e 15°C, quando a avaliação sensorial também foi melhor para estas amostras. O limite da vida-de-prateleira determinado pela perda da vitamina C foi menor do que o determinado pela avaliação sensorial dos sucos. Não foi relatado crescimento microbiano em nenhuma das amostras submetidas aos tratamentos testados.

Sistema asséptico pode ser definido como o enchimento a frio de um alimento comercialmente estéril, em uma embalagem previamente esterilizada, sob condições também estéreis, possibilitando assim o armazenamento do produto em temperatura ambiente. O produto é submetido a tratamento térmico (HTST ou UHT), seguido de imediato resfriamento, permitindo que o produto sofra pouca ação do calor, reduzindo as perdas de suas características naturais e aumentando assim a sua qualidade. Este processo permite o uso de vários tipos de embalagens incluindo as não resistentes ao calor, como as de material plástico (ABREU, 2001).

Segundo GAVA (1985), a embalagem *Tetra Brik* garante a ausência de espaço livre e, conseqüentemente, a remoção de quantidade considerável de oxigênio, além de tornar a embalagem empilhável. Entretanto, as pequenas quantidades de oxigênio dissolvido são capazes de, em função da temperatura de armazenamento, conduzir a perdas de vitamina C. O mesmo pode ocorrer com alterações de sabor e aroma, assim como com as características de cor dos produtos.

Comparando sucos de laranja envasados por sistema asséptico e por enchimento a quente e embalados em garrafas de vidro, MANNHEIM e HAVKIN (1981)

determinaram a estabilidade desses produtos pela retenção da vitamina C, pelo escurecimento do suco e pela avaliação sensorial. Para tanto, as amostras foram armazenadas às temperaturas de 4, 15 e 25°C. Foi constatado que o envase asséptico preservou melhor o teor de vitamina C, assim como permitiu menor escurecimento do suco de laranja. Os sucos envasados pelo processo asséptico e armazenados a 15 e 25°C apresentaram melhor retenção de ácido ascórbico do que os envasados à quente. Entretanto, quando os dois tipos de sucos foram armazenados a 4°C não houve diferença significativa na redução do teor de vitamina C, nem no escurecimento do produto, sendo que, após 70 dias de armazenamento, a redução dos teores de vitamina C foi de 5%, para ambos. Na avaliação sensorial, as amostras mantidas a 4 e 15°C conservaram suas características por um período que excedeu a quatro meses. Porém, as amostras armazenadas a 25°C permaneceram aceitáveis após 30 dias e inaceitáveis após 40 dias. Os autores concluíram que o principal fator para determinar a estabilidade do produto não foi o método de envase e sim a temperatura de armazenamento.

Para RYLEY e KAJDA (1994), a importância da temperatura do armazenamento para a manutenção da qualidade dos produtos estáveis à temperatura ambiente não é suficientemente enfatizada. Também pode estar sendo igualmente subestimado, o papel da luz na estabilidade dos produtos embalados em frascos de vidro e de PET.

Os aditivos alimentares são substâncias ou mistura de substâncias, intencionalmente adicionadas aos alimentos, com a finalidade de melhorar a aparência, o sabor, a textura e o tempo de armazenamento dos mesmos. A utilização de aditivos em bebidas gaseificadas e não gaseificadas foi

regulamentada pela resolução nº 389 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1999), que estabeleceu suas funções e seus limites máximos. Os alimentos para praticantes de atividades físicas devem obedecer aos mesmos limites previstos para os alimentos convencionais similares, desde que não alterem a finalidade a que o alimento se propõe (BRASIL, 1998). Especificamente, os agentes conservadores atuam de forma a impossibilitar ou atrasar a deterioração ocasionada por microrganismos ou enzimas nos alimentos, aumentando sua vida de prateleira.

Entre os agentes conservadores, os sais de ácido benzóico são indicados para auxiliar na preservação dos alimentos ácidos ou acidificados, como os sucos de frutas, as bebidas carbonatadas, a cidra, os pickles e o repolho azedo, pois sua atividade ótima está situada na faixa de pH entre 2,4 a 4. É efetivo na inibição do crescimento de fungos filamentosos, leveduras e bactérias deteriorantes. Apresenta como vantagens o seu baixo custo em comparação aos sais de ácido sórbico, assim como a sua solubilidade em água. Uma das desvantagens de sua utilização é a possível interferência no sabor dos produtos. Neste caso, sua concentração pode ser diminuída, podendo então ser misturado a outros agentes conservadores. É possível que tenha um considerável efeito sinérgico com o cloreto de sódio. Quanto à segurança alimentar, o benzoato de sódio não se acumula no organismo, devendo ser utilizado dentro dos limites permitidos. Os sais do ácido sórbico, entretanto, são menos tóxicos, provavelmente por serem metabolizados pelos humanos e pelos animais, da mesma forma que os outros ácidos graxos (CHICHESTER e TANNER JR, 1968).

A legislação brasileira (BRASIL, 1999) admite um limite de 0,05%, para os sais de ácido benzóico (calculado como ácido benzóico) para bebidas não alcoólicas,

gaseificadas e não gaseificadas e, para os sais de ácido sórbico, 0,08% (calculado como ácido sórbico) para as bebidas não alcoólicas e não gaseificadas e 0,03% para as bebidas gaseificadas.

## **2.5 – ACEROLA E CAJU: FONTES DE VITAMINA C**

A acerola (*Malpighia glabra*), com teores de vitamina C que variam de 1000 mg até 4000 mg por 100 g de polpa, dependendo do grau de maturação do fruto (ASENJO e GUSMAN, 1946), apresenta-se como uma das boas opções para o desenvolvimento de produtos que proporcionem maiores benefícios nutricionais. A utilização de uma fruta já conhecida pela população e incorporada ao hábito de consumo dos que se preocupam com a saúde facilita a aceitação dos produtos que a incluam em sua formulação. Na indústria alimentícia, o suco de acerola tem sido utilizado para enriquecer sucos e néctares de outras frutas, e também para preservar conservas de frutos enlatados, secos ou frigorificados, atuando como antioxidante natural (SILVA, 1999). É oportuna a realização de pesquisas, para obtenção de produtos derivados da acerola, tais como geléias, sorvetes, doces e misturas com outros produtos à base de frutas ou não.

É um fruto encontrado em regiões de clima tipicamente tropical, sendo também conhecida como cereja das Antilhas, *West Indian cherry*, cereja de Barbados, cereja de Porto Rico e cereja do Pará (ASENJO, 1980; NETTO, 1986).

A acerola foi introduzida no Brasil em 1955, procedente de Porto Rico, pela Universidade Federal de Pernambuco (NETTO, 1986). A partir da década de 80, a acerola ganhou *status* de pomar comercial no Brasil (SILVA, 1999).

As alterações que ocorrem em sua composição durante o processo de maturação, principalmente aumento da acidez titulável, açúcares e sólidos solúveis, e diminuição da vitamina C, devem ser consideradas nas aplicações tecnológicas da acerola (VENDRAMINI e TRUGO, 2000).

Segundo BLISKA & LEITE (1995), com a classificação e colheita manual do fruto, o cultivo da acerola proporciona o uso intensivo de mão-de-obra, significando geração de emprego. Além disso, representa uma alternativa de diversificação para os pequenos produtores. Estima-se que o Brasil já seja o principal produtor deste fruto, que pesa entre 2 a 10 g.

O desenvolvimento de novos produtos à base de acerola poderá favorecer a necessária ampliação de seu mercado, estabilizado depois de um rápido crescimento. Avanço que, segundo MATTA (1999), também depende de avanços tecnológicos no cultivo e na agroindustrialização da fruta.

Um exemplo de produto focado nas vantagens nutricionais da acerola foi a elaboração de um licor de acerola (PENHA, 2003), com alto teor de vitamina C. Este produto atendeu à necessidade de agregar valor à matéria-prima, podendo contribuir na exportação de produtos manufaturados, além de estimular o consumo interno.

O pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale* L.) é consumido tanto pelas suas qualidades sensoriais, quanto pelo seu alto teor de vitamina C. SILVA (1998) reportou teores de vitamina C no caju que variaram entre 139 a 287 mg/100g, sendo uma das frutas mais ricas nesse nutriente.

Destacam-se entre os produtos obtidos a partir do seu beneficiamento, em primeiro lugar, o suco turvo integral (cajuada), consumido habitualmente como refresco, seguido da cajuína (suco clarificado) e, ainda, os diversos tipos de doces, o refrigerante gaseificado e as bebidas fermentadas (TELLES, 1988; PAIVA *et al.*, 2000). Cerca de 40 mil toneladas do suco integral são consumidas no mercado interno (PAIVA *et al.*, 2000).

O fruto (a castanha) do cajueiro prende-se ao pedúnculo hipertrofiado (pseudofruto), também chamado de maçã do cajueiro. Em peso, o caju é composto por 10% de castanha e 90% de pedúnculo (SOARES, 1986). A castanha do caju é uma das nozes mais apreciadas no mercado interno e externo, representando um importante produto de exportação. Atualmente a Índia é o principal produtor e exportador mundial dessa castanha, sendo o Brasil o segundo maior produtor (EMBRAPA, 2001).

O aproveitamento do pedúnculo foi estimado em somente 12%, podendo ser explicado pelo desperdício no período da safra, voltada principalmente para a colheita da castanha (PAIVA *et al.*, 2000). Pela estimativa de SILVA (1998), são desperdiçadas 1,6 milhão de toneladas do pedúnculo por ano.

A região Nordeste responde por mais de 99% da produção nacional de caju, estando as maiores concentrações localizadas nas faixas litorâneas de transição do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte (CAVALCANTI, 1998). A agroindústria do caju é responsável no Nordeste por uma área plantada em torno de 1 milhão de hectares, gerando empregos diretos e indiretos no segmento agrícola, industrial e de serviços, para 1,5 milhão de pessoas, ressaltando-se ainda que a referida cultura está se expandindo por todo o Brasil (MAIA *et al.*, 2001).

O alto teor de conservantes utilizado atualmente para preservar a cor e garantir a qualidade microbiológica interfere no marketing do suco de caju. Maiores avanços na preservação da integridade dos frutos, desde a colheita até o processamento industrial, estão reduzindo o desperdício do pedúnculo, como também possibilitando a diminuição dos teores de conservadores para a manutenção da estabilidade desses produtos (MAIA *et al.*, 2001).

A vitamina C, micronutriente da maior importância para estas duas frutas, é necessária ao crescimento e desenvolvimento dos seres humanos, devendo ser fornecida pela dieta diariamente, uma vez que não pode ser sintetizada pelo organismo. Assim, a melhor maneira de assegurar um bom aporte vitamínico é ingerir uma alimentação equilibrada e variada, de modo que todos os nutrientes essenciais estejam presentes (MEDICAL..., 2003).

A vitamina C promove a saúde dos dentes e das gengivas, auxilia na absorção do ferro não-heme e atua como co-fator na biossíntese e estabilização do colágeno. Facilita a cicatrização dos tecidos e ainda interfere positivamente no sistema imunológico. A deficiência severa desta vitamina causa o escorbuto, e para evitá-lo são necessárias doses mínimas de 10 mg/dia. Através de sua atividade antioxidante, o ácido ascórbico tem sido utilizado no combate aos radicais livres, responsáveis por inúmeras desordens biológicas no organismo, além da peroxidação de lípidos responsável por danos celulares (ROING *et al.*, 1993).

Normalmente não ocorrem casos de toxicidade com a ingestão de vitamina C, por que é hidrossolúvel e regularmente excretada pelo corpo. Entretanto, megadoses parecem estar relacionadas com cálculos renais e, em circunstâncias muito raras,

com anemia, causada pela interferência na absorção da vitamina B12 (MEDICAL..., 2003).

FUJIMURA *et al.* (1991) verificaram uma correlação positiva entre hipercolesterolemia e dieta deficiente em vitamina C. Entre os indivíduos dos dois grupos estudados (hipercolesterolêmicos e normocolesterolêmicos), o teor de vitamina C na dieta dos normocolesterolêmicos foi maior. Os autores sugeriram que o papel da vitamina C no metabolismo do colesterol seria atuar na interconversão do mesmo em ácidos biliares e no aumento da atividade da enzima lecitina acetil-transferase, que promove a esterificação do colesterol.

Por outro lado, em extensa revisão bibliográfica, HEMILÄ (1992), comparando estudos epidemiológicos e experimentais relacionando a vitamina C e o metabolismo do colesterol, afirmou que esta relação pode variar entre os indivíduos. Sugeriu que níveis baixos de vitamina C podem ser mais críticos para aqueles que têm dietas ricas em gorduras saturadas e colesterol. Citou, ainda, que, embora estudos com várias espécies animais tenham mostrado que o catabolismo do colesterol é afetado pelos níveis de vitamina C, em humanos ainda seriam necessários mais trabalhos para que esta relação fosse comprovada.

O efeito da suplementação de vitamina C na dieta de crianças pré-escolares, utilizando suco de acerola, foi estudado por COSTA *et al.* (2001). Os resultados apontaram para uma correlação entre os níveis iniciais de vitamina C e hemoglobina e para um aumento significativo nos níveis médios de vitamina C e de hemoglobina, após 35 dias de suplementação com suco de acerola, servido durante o almoço. Tendo em vista a disponibilidade e o baixo custo da acerola no

Nordeste, os autores aconselham sua inclusão nos programas de alimentação para populações de alto risco para anemia.

Idosos institucionalizados, em João Pessoa, Paraíba, foram suplementados com vitamina C sob a forma de fármaco e de suco de acerola. O objetivo foi investigar o tempo necessário para a normalização dos níveis séricos de ácido ascórbico, que se apresentavam abaixo do normal. Aranha, citado por ARANHA *et al.* (2000), observou que, no vigésimo dia, o efeito da suplementação foi satisfatório, indicando ser mais adequada a utilização do suco de acerola, por se tratar de produto natural e de fácil aquisição.

As DRIs (*Dietary Reference Intake*) para indivíduos, propostas pelo *Food and Nutrition Board/Institute of Medicine*, da Academia Nacional de Ciências dos EUA (US NATIONAL..., 2000), preconizam de acordo com os diferentes estágios de vida, os seguintes valores de vitamina C expressos em mg/dia: homens de 45 a 90; mulheres de 45 a 75; gestantes de 80 a 85 e lactantes de 115 a 120. Assim, a vitamina C, entre outros nutrientes, teve seus valores revistos e aumentados, com relação às RDAs, *Recommended Dietary Allowances* (NATIONAL..., 1989) e está no mesmo grupo de outros nutrientes antioxidantes.

Segundo AMAYA-FARFAN *et al.* (2001), para determinar os requerimentos dos antioxidantes, foram usados como critérios suas funções biológicas e indicadores bioquímicos. No caso da vitamina C, considerou-se seu alto poder redutor, que proporciona proteção contra a oxidação descontrolada no meio aquoso da célula. Citaram que, em função do maior estresse oxidativo, os fumantes devem aumentar a sua ingestão em 35 mg/dia.

“Antioxidante alimentar é toda substância na dieta capaz de reduzir significativamente os efeitos adversos produzidos por espécies reativas, como aquelas de oxigênio e nitrogênio, e que possuem função normal no organismo” (US NATIONAL...,2000). AMAYA-FARFAN *et al.* (2001) consideraram que, nesse sentido, as vitaminas C e E e o selênio (na forma de seleno-metionina e seleno-cisteína) atendem a esta definição. Entretanto, o  $\beta$ -caroteno e os outros carotenóides, embora influenciem as reações bioquímicas do sistema oxidativo, não correspondem à definição de antioxidante. Justificaram esta cautela, pela forma variável com que certos carotenóides agem, como antioxidantes quando em baixas concentrações, e como pró-oxidantes, quando em altas concentrações.

Um tema atual e bastante polêmico relaciona-se ao consumo de alimentos funcionais. Por definição, o alimento funcional é aquele que apresenta funções nutricionais, fisiológicas e terapêuticas, ou seja, aqueles que contêm substâncias, nutrientes ou não nutrientes, que apresentam efeitos benéficos para a saúde. Os alimentos que mais têm sido estudados atualmente são a soja, o tomate, os peixes e óleos de peixe, os leites fermentados, o alho, a cebola, as frutas, as hortaliças, os grãos integrais, os vinhos e os chás.

OLIVEIRA (2002) considerou os carotenóides, junto à vitamina C, à vitamina E e aos compostos fenólicos, encontrados principalmente em frutas e hortaliças, como ingredientes funcionais importantes por sua ação antioxidante. Desta forma, produtos que contêm altos teores de vitamina C, provenientes das frutas de sua composição, poderiam ser pensados também como alimentos funcionais, participando de uma dieta variada e nutricionalmente equilibrada, reforçando assim, o papel do alimento na saúde.

Quanto à estabilidade da vitamina C, a sua degradação em solução ocorre tanto em condições anaeróbicas quanto em aeróbicas, com diferentes produtos de degradação. Em ambas, ocorre formação de furaldeídos, com formação de pigmentos escuros (BOBBIO e BOBBIO, 1992). SILVA (1999) citou trabalhos que condicionaram a perda da vitamina C nos alimentos a vários fatores, tais como: pH, presença de oxigênio, luz, concentração de sal e de açúcares, aminoácidos livres, atividade de água e presença da enzima ascorbato-oxidase, afirmando que os teores de vitamina C tendem a diminuir com o aumento do tempo de armazenamento e com a temperatura empregada no processamento industrial e no armazenamento de produtos de acerola.

CAMPELO *et al.* (1998) submeteram parte de um lote de polpa de acerola a aquecimento (85°C/1s), com o objetivo de inativar a enzima ácido ascórbico oxidase. A outra parte do lote não sofreu tratamento térmico. Os produtos foram armazenados a -18°C. Ao final de doze meses, foram observadas perdas de 38% e 44%, para as amostras sem e com tratamento térmico respectivamente. Concluíram que o congelamento da acerola em seguida ao seu despulpamento foi o melhor método para preservar sua principal característica nutricional. O comportamento da polpa de acerola congelada sem tratamento também foi estudado por SILVA (1999) que, ao final de 180 dias, verificou uma redução de aproximadamente 20% no teor de ácido ascórbico. JUSTI *et al.* (2000) estudando a composição e a estabilidade da vitamina C da polpa de camu-camu armazenada a -18°C, verificaram uma perda de 26%, após 335 dias de armazenamento.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 – MATERIAL**

##### **3.1.1 – Matérias-primas**

- Acerola *in natura* adquirida diretamente do produtor, na cidade do Rio de Janeiro
- Polpa de caju congelada, adquirida na Ceasa da cidade do Rio de Janeiro
- Sacarose comercial
- Água potável filtrada
- Cloreto de sódio – P. A. - Merck
- Citrato de sódio – P.A. – Merck
- Benzoato de sódio – Synth

##### **3.1.2 – Embalagens**

- Garrafas de vidro transparente, Plasti Shield 300, marca Cisper, com tampas de metal 38 mm, da White Cap
- Garrafas de PET verde, tampas plásticas, capacidade 200 mL

##### **3.1.3 – Equipamentos**

- Mesa de aspersão e lavagem, Itametal
- Despoldadeira horizontal, com peneiras de cesto horizontal de 0,8 mm e 0,6 mm – Bonina 0,25 df, Itametal

- Vaso multipropósito encamisado, com controle de temperatura e agitação, modelo FT40, Armfield
- Sistema de membranas de microfiltração e ultrafiltração, modelo Protosep IV, Koch Membrane Systems
- Câmara de fluxo laminar para envase asséptico, com controle automático do enchimento, MicroThermics, Inc
- Trocador de calor de superfície raspada, modelo FT25D, Armfield
- Autoclave elétrico, auto gerador de vapor, modelo 103 D, Fabbe Primar

## **3.2 – METODOLOGIA EXPERIMENTAL**

Os experimentos foram realizados na Planta Piloto de Operações Unitárias da Embrapa Agroindústria de Alimentos, em escala semi-piloto, e as análises foram realizadas em seus Laboratórios. As análises de cloretos foram realizadas na PUC/RJ e a determinação da osmolalidade das bebidas foi feita no Instituto de Química da UNICAMP.

### **3.2.1 – Experimentos preliminares**

#### **3.2.1.1 – Microfiltração das polpas de caju e de acerola**

Para obtenção dos sucos clarificados, utilizados como base do repositório hidroeletrólítico, foram definidas as condições de processo para a clarificação das polpas de caju e acerola. A utilização dos sucos de acerola e de caju clarificados em separado ocorreu somente nos testes de preferência para definição da mistura de sucos (item 3.2.1.2). Nos outros experimentos, ambas as polpas foram

microfiltradas misturadas, na proporção escolhida como base para o repositivo hidroeletrolítico.

A acerola foi selecionada, lavada com água corrente e sanificada com água clorada (0,005% de cloro livre). A seguir, as frutas foram despulpadas em despulpadeira horizontal. A polpa obtida foi armazenada em bombonas de 5 litros e mantida congelada a  $-18^{\circ}\text{C}$  até o momento da sua utilização.

A polpa de acerola foi hidrolisada utilizando-se um complexo enzimático com atividade predominantemente pectinolítica. Este procedimento objetivou a quebra de macromoléculas como pectina, amido e celulose, com conseqüente redução da viscosidade aparente da polpa, visando um melhor desempenho nos processos com membranas. Utilizou-se, para a hidrólise da polpa de acerola, 0,1 mL/L (0,01%) de pectinase (Pectinex Ultra SP-L, Novo Nordisk) por 30 minutos, à temperatura de  $35^{\circ}\text{C}$ . Em seguida, o suco foi microfiltrado em membrana de polietersulfona de  $0,3\ \mu\text{m}$  de tamanho médio de poro e  $0,05\ \text{m}^2$  de área filtrante. O processo foi conduzido a uma pressão transmembrana de 100 kPa, à temperatura de  $30^{\circ}\text{C}$ , com recolhimento contínuo do permeado e recirculação do retido.

Essas condições, otimizadas por MATTA *et al.* (2000a), de pré-tratamento enzimático e microfiltração, foram utilizadas em todos os processamentos deste trabalho. Segundo esta autora, o efeito da pressão sobre o fluxo de permeado não foi significativo, optando-se pelo menor valor, com menor consumo de energia (MATTA, 1999).

A polpa de caju congelada, embalada em bombonas de cinco litros, foi descongelada, homogeneizada em tacho encamisado com agitador e recolocada

em sua embalagem de origem. Imediatamente após esse procedimento, foi congelada e mantida a  $-18^{\circ}\text{C}$  até a sua utilização.

A microfiltração da polpa de caju foi realizada nas mesmas condições operacionais definidas para a polpa de acerola, porém sem a realização do pré-tratamento enzimático. A baixa viscosidade aparente da polpa comercial utilizada nos experimentos (estudos iniciais indicaram o valor de 9,7 mPa.s) não tornou necessário esse tratamento. Os resultados obtidos em estudos realizados previamente por CAMPOS *et al.* (2002b) também não indicaram a necessidade da hidrólise da polpa de caju visando um melhor desempenho nos processos de microfiltração.

#### 3.2.1.2 – Definição da mistura de sucos

Diferentes bebidas, tendo como base os sucos clarificados de acerola e caju, foram elaboradas, a fim de avaliar a tendência de preferência para a formulação do repositores hidroeletrolítico.

Os três testes de preferência foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial da Embrapa Agroindústria de Alimentos, com 81 consumidores, em cabines individuais sob iluminação vermelha, sendo as amostras servidas geladas ( $\pm 10^{\circ}\text{C}$ ) em copos plásticos de 50 mL, codificadas com números aleatórios de três dígitos e apresentadas de forma balanceada e aleatorizada. Junto com as amostras foi servida água mineral à temperatura ambiente, para limpeza do palato, e a ficha do teste. Utilizou-se escala hedônica de 9 pontos, variando de 1 (desgostei extremamente) a 9 (gostei extremamente).

As bebidas foram preparadas com uma parte de suco clarificado, ou das misturas desses sucos, e duas partes de água mineral, sendo adicionadas de sacarose na proporção de 6% a 8%, dependendo do percentual de cada tipo de suco (naqueles com predominância de acerola, a proporção de sacarose foi de 8%). A adição de citrato de sódio, como fonte de sódio (0,17% a 0,18%, dependendo da proporção dos sucos na mistura), foi definida a partir de cálculos teóricos e da composição centesimal das polpas utilizadas. As formulações avaliadas basearam-se em dados da literatura para repositores hidroeletrólíticos (FORD, 1995; BROUNS e KOVACS, 1997; BRASIL, 1998; ARMSTRONG, 2000) e em produtos comerciais.

A Tabela 3.1 mostra as proporções de cada um dos sucos utilizados nas misturas, nos três testes de preferência realizados.

Tabela 3.1. Proporções dos sucos clarificados de acerola e de caju utilizados nos testes sensoriais I, II e III

Teste I	Teste II	Teste III
Acerola (%) / Caju (%)	Acerola (%) / Caju (%)	Acerola (%) / Caju (%)
20 / 80	80 / 20	100 / 0
40 / 60	70 / 30	0 / 100
50 / 50	60 / 40	70 / 30

### 3.2.1.3 – Ensaio de microfiltração da bebida

Definida a melhor mistura de sucos para a base do repositores hidroeletrólítico, foi realizado um experimento de microfiltração, em triplicata, a fim de se conhecer as características do produto e do processo, bem como seu comportamento no sistema de membranas.

Nesta etapa do trabalho, a composição da bebida foi a seguinte: uma parte da mistura da polpa de acerola hidrolisada e da polpa de caju, duas partes de água filtrada, sacarose (7%) e citrato de sódio (0,17%). Tanto na adição do açúcar quanto do sal de sódio, as quantidades foram aumentadas em 10% e 20%, respectivamente, a fim de corrigir possíveis retenções de sólidos solúveis na membrana de microfiltração, reportadas na literatura (TODISCO, 1996; MATTA, 1999; VAILLANT et al. 1999; CAMPOS, 2002).

O preparo da formulação que alimentou o sistema de membranas obedeceu à seguinte ordem: o citrato de sódio foi dissolvido em água, sendo então adicionados o açúcar, a polpa de caju e a polpa de acerola hidrolisada, obtendo-se o que se denominou, mistura alimentada.

A mistura alimentada foi microfiltrada, utilizando-se o mesmo sistema de membranas e as mesmas condições descritas no item 3.2.1.1. O volume utilizado em cada ensaio foi de 6600 mL. O permeado, ou seja, o repositivo hidroeletrólítico, foi coletado continuamente em sistema aberto e o retido recirculado ao tanque de alimentação. A vazão do permeado foi medida em intervalos de 15 minutos, para determinação do seu fluxo. A permeabilidade hidráulica da membrana foi determinada antes de cada processamento.

Em todas as etapas dos processamentos, foram avaliados os teores de sólidos solúveis, vitamina C, acidez e pH. Os teores de sódio, potássio e cloreto, assim como os de glicose, frutose e sacarose foram também determinados. As análises microbiológicas foram realizadas nas amostras das correntes de alimentação e de permeado, conforme descrito no item 3.2.3.

Após cada processo, a membrana foi higienizada pelo sistema “cleaning in place” (CIP). Esta higienização seguiu as especificações do fabricante e obedeceu às seguintes etapas: enxágüe com água à temperatura ambiente por 30 minutos; circulação de solução de hidróxido de sódio a 1%, pH 9, a 45°C, por 20 minutos; enxágüe com água por 30 minutos; circulação de solução cloro-alkalina, pH 10, por 20 minutos, à temperatura de 45°C; enxágüe com água por 30 minutos. Em todos os procedimentos de limpeza foi utilizada água destilada.

#### 3.2.1.4 – Ensaio para o estudo da estabilidade da bebida

A fim de se estudar a estabilidade da bebida, foram realizados, inicialmente, dois tipos de processamento: no primeiro (processo 1), a bebida foi formulada antes da microfiltração, semelhante ao que foi realizado nos ensaios de microfiltração da bebida (item 3.2.13) e, no segundo (processo 2), apenas a mistura de sucos e parte de água foi microfiltrada, efetuando-se, em seguida, a formulação do produto com a adição de uma solução de água, sais e açúcar, previamente autoclavada.

O produto foi formulado utilizando-se 67% de água deionizada e 33% da mistura de sucos (70% de acerola e 30% de caju), sendo adicionados de sacarose, citrato de sódio (0,06%) e cloreto de sódio (0,06%), segundo SREBERNICH (1998) e BRASIL (1998). A sacarose adicionada no processo 1 (6,5%) foi maior do que a do processo 2 (5,0%). A elevada osmolalidade observada no produto obtido no processo 1 foi a razão para a redução deste ingrediente, a partir do processo 2, já que o principal determinante da osmolalidade de uma bebida é seu teor de carboidratos (FORD, 1995). No processo 1, considerou-se a mesma margem de segurança prevista nos ensaios anteriores, referente às possíveis retenções na

membrana, tanto para as adições de sais quanto para as de sacarose (TODISCO, 1996; MATTA, 1999; VAILLANT et al. 1999; CAMPOS, 2002).

A microfiltração, tanto da bebida pronta, quanto da mistura de sucos, foi conduzida nas mesmas condições já descritas anteriormente (3.2.1.1). Em ambos os processamentos, 1 e 2, o recolhimento do permeado foi efetuado em sistema fechado, previamente autoclavado.

No processo 2, a mistura de sucos microfiltrada foi adicionada à solução estéril de sais e açúcar em uma câmara de fluxo laminar, obtendo-se, então, o repositior.

As embalagens, onde a bebida pronta foi acondicionada, foram higienizadas e sanificadas com hipoclorito de sódio a 0,02% de cloro livre, por 20 minutos, no caso das embalagens plásticas (PET), e autoclavadas, no caso das garrafas de vidro. Este procedimento foi adotado em todos os processos nos quais foi estudada a estabilidade da bebida.

Em ambos os processos foi utilizada a câmara de fluxo laminar para a transferência das bebidas prontas para as embalagens. Pretendeu-se avaliar as características da bebida a cada 15 dias, durante 90 dias. Para cada tempo avaliado, do um ao seis, foram reservados frascos, os quais foram rotulados aleatoriamente no tempo zero e retirados do armazenamento para a realização das análises nos intervalos previamente citados.

O produto obtido no processo 1 foi armazenado à temperatura ambiente (25°C) e sob refrigeração (4°C), para acompanhamento da sua estabilidade. Devido à limitada capacidade do sistema fechado de recolhimento do permeado (seis litros), não houve possibilidade de se avaliar ao mesmo tempo o comportamento da

bebida acondicionada em frascos de PET. Portanto, no processo 1 a bebida foi acondicionada somente em frascos de vidro.

O produto obtido no Processo 2 foi armazenado em frascos de vidro e de PET, com garrafas extras para cada tipo de embalagem, tendo sido armazenados somente sob refrigeração (4°C).

### **3.2.2 - Experimentos finais**

A partir dos resultados dos experimentos preliminares, foram definidos três processos (A, B e C) para obtenção do repositur hidroeletrolítico clarificado e para o estudo da sua estabilidade e aceitabilidade.

A formulação do repositur baseou-se na mesma mistura utilizada nos testes preliminares e que foi composta de 33% de polpas de frutas (70% de polpa de acerola hidrolisada e 30% de polpa de caju) diluídas em 67% de água filtrada. A essa base, foram adicionados 0,06% de cloreto de sódio, 0,06% de citrato de sódio, e 5% de açúcar. No processo A manteve-se a margem de segurança, para compensar as possíveis retenções de sais e açúcares na membrana (TODISCO, 1996; MATTA, 1999; VAILLANT et al. 1999; CAMPOS, 2002).

A polpa de acerola foi processada como descrita no item 3.2.1.1 e mantida sob congelamento até o momento da sua utilização.

As condições operacionais do tratamento enzimático da polpa de acerola e da microfiltração da bebida formulada ou da mistura de polpas e água foram as mesmas para os três processos e iguais àquelas descritas nos experimentos preliminares. Para a hidrólise da polpa de acerola, foi utilizado um vaso multipropósito com controle de agitação e temperatura (Figura 3.1) e a

microfiltração da solução foi conduzida em uma membrana tubular, com recirculação da corrente retida e recolhimento da corrente permeada (Figura 3.2.)



Figura 3.1. Vaso multipropósito da Armfield, utilizado para o tratamento enzimático da polpa de acerola



Figura 3.2. Unidade de microfiltração Protosep IV

O esquema do procedimento experimental realizado para cada um dos processos, bem como a descrição dos mesmos está apresentado a seguir:

Processo A (Figura 3.3):

- ★ Tratamento enzimático da polpa de acerola – foi realizada sob agitação constante e temperatura controlada (Figura 3.1).
- ★ Formulação – foi feita a mistura de todos os ingredientes, polpa de acerola hidrolisada, polpa de caju, água, açúcar, cloreto de sódio e citrato de sódio.
- ★ Microfiltração – a bebida formulada, conforme descrito acima, foi microfiltrada (Figura 3.2) com reciclo do retido. O permeado (repositor) foi recolhido em um sistema fechado (Figura 3.4), previamente autoclavado.
- ★ Envase – o repositor clarificado foi transferido do sistema fechado de recolhimento de permeado para as garrafas de vidro e de PET dentro de uma câmara de fluxo laminar para envase asséptico (Figura 3.5). Essas garrafas foram cheias completamente, eliminando-se o espaço livre, e rotuladas aleatoriamente, para avaliação da estabilidade da bebida a cada 15 dias, durante os noventa dias do estudo. Este procedimento foi seguido para os três processos.
- ★ Armazenamento – as garrafas de vidro e de PET foram mantidas sob refrigeração (4°C) durante 90 dias.

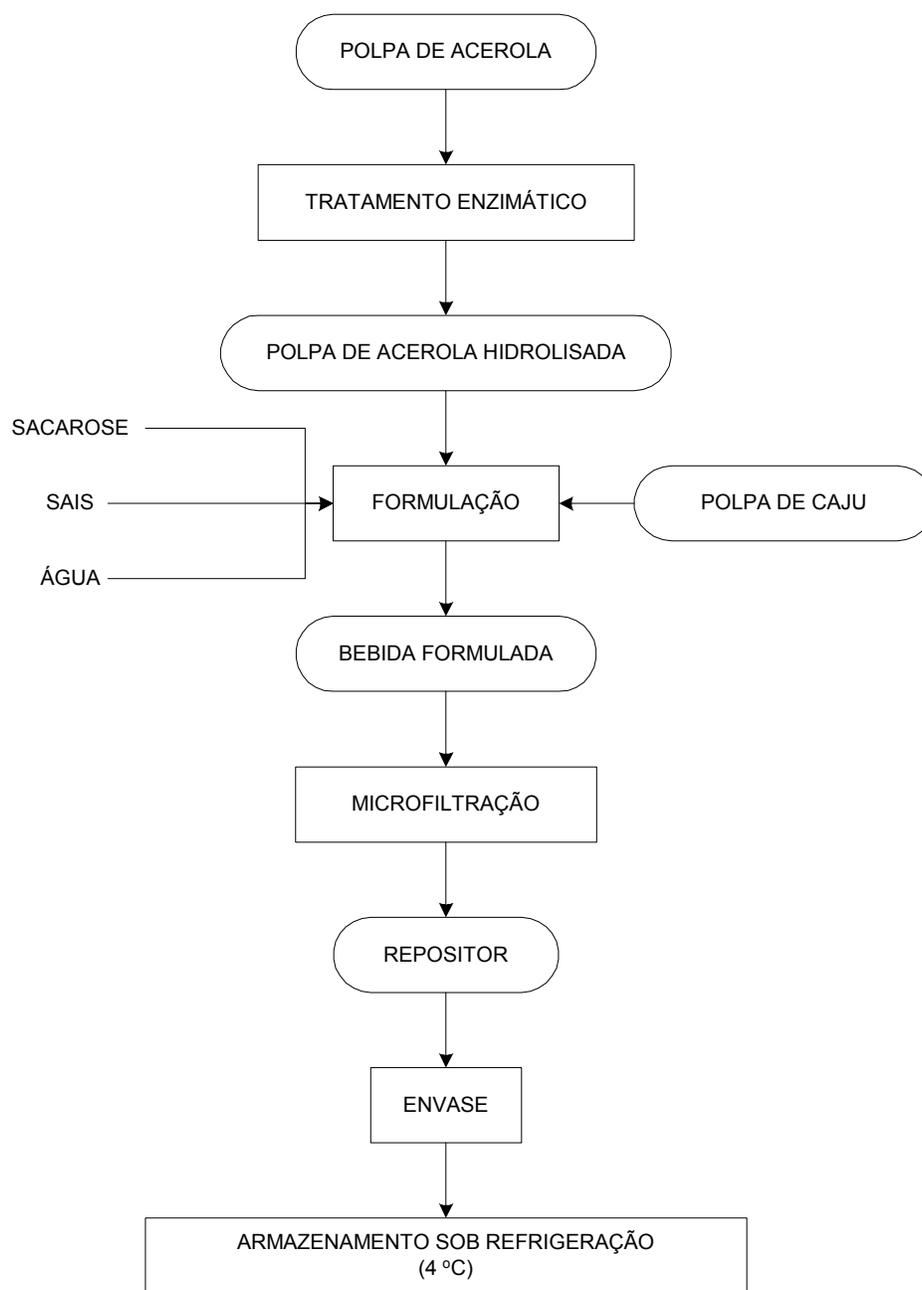


Figura 3.3. Fluxograma esquemático do processo de obtenção do repositon hidroeletrolítico, com formulação anterior à clarificação (processo A).



Figura 3.4. Recolhimento do permeado da microfiltração em sistema fechado



Figura 3.5. Câmara de fluxo laminar para envase asséptico com controle automático do enchimento.

Processo B (Figura 3.6):

- ★ Tratamento enzimático da polpa de acerola - foi submetida à hidrólise enzimática sob agitação e temperatura constantes.
- ★ Mistura – a polpa de acerola hidrolisada foi misturada à polpa de caju e diluída com parte da água, sendo conduzida para o tanque de alimentação da microfiltração.
- ★ Microfiltração - a mistura de sucos e água foi microfiltrada, sendo a mistura clarificada (permeado) recolhida no sistema fechado (Figura 3.4).
- ★ Preparo da solução - a parte restante da água foi utilizada para o preparo da solução de sais e açúcar.
- ★ Esterilização – a solução foi esterilizada em autoclave à temperatura de 121°C (1 atm) por 15 minutos.
- ★ Formulação - o repositior foi formulado na câmara de fluxo laminar adicionando-se a solução esterilizada à mistura clarificada.
- ★ Envase – o repositior foi acondicionado nas garrafas de vidro e de PET, utilizando-se a câmara de fluxo laminar para o envase asséptico (Figura 3.5).
- ★ Armazenamento – as garrafas de vidro e de PET foram mantidas sob refrigeração (4°C) durante 90 dias.

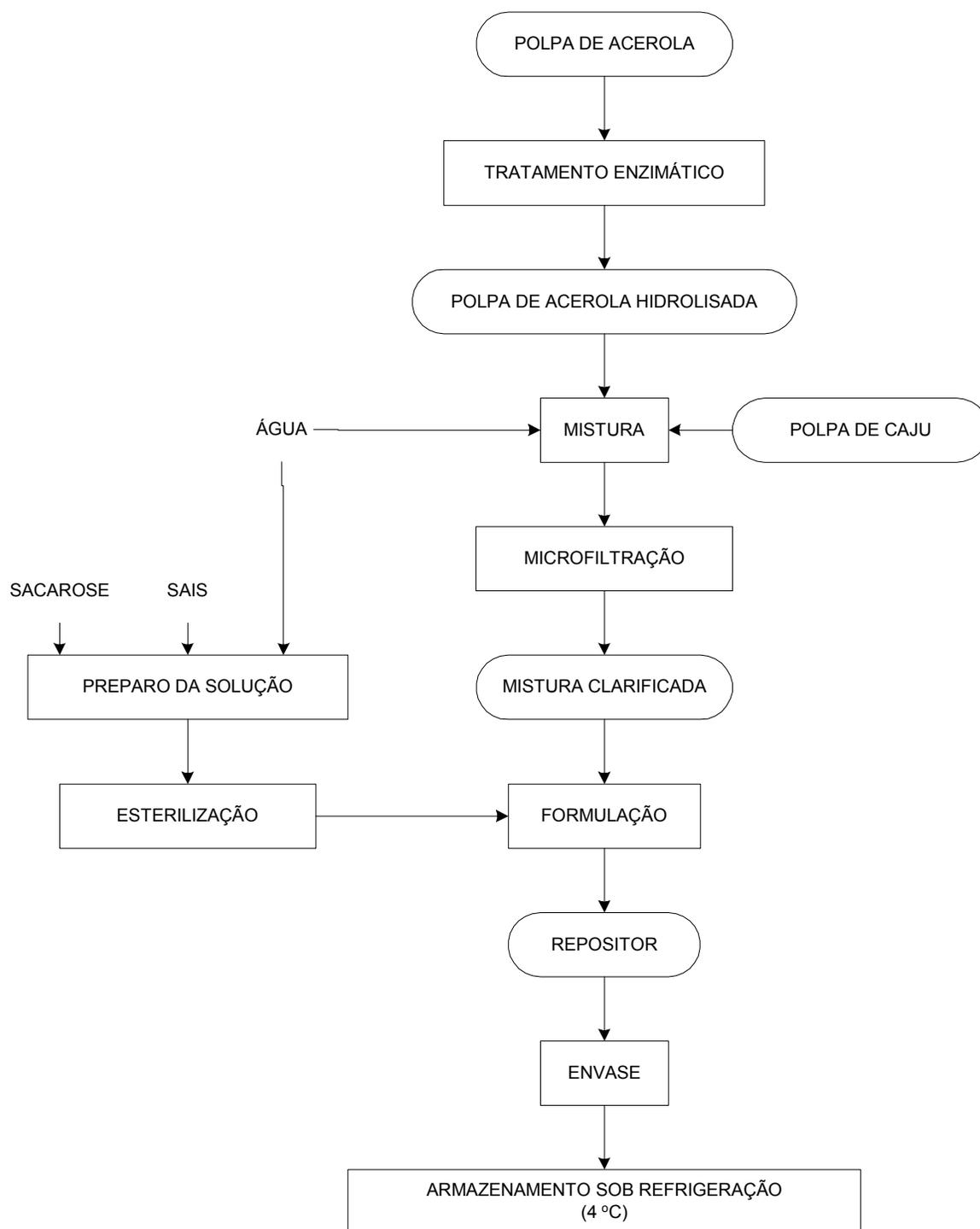


Figura 3.6. Fluxograma esquemático do processo de obtenção do repositório hidroeletrólítico, com formulação posterior à clarificação (processo B).

Processo C (Figura 3.7):

- ★ Tratamento enzimático – nas mesmas condições dos processos anteriores.
- ★ Mistura – a polpa de acerola hidrolisada foi misturada à polpa de caju e diluída com parte da água, sendo conduzida para o tanque de alimentação da microfiltração.
- ★ Microfiltração - a mistura de sucos e água foi microfiltrada, sendo a mistura clarificada (permeado) recolhida continuamente em sistema aberto (Figura 3.8).
- ★ Preparo da solução - a parte restante da água foi utilizada para o preparo da solução de sais e açúcar, à qual foi adicionado 300 mg/kg (0,03%) do agente conservador benzoato de sódio.
- ★ Formulação – o repositivo foi formulado adicionando-se à mistura clarificada a solução de sais, açúcar e conservador.
- ★ Tratamento térmico – a esterilização do repositivo foi realizada em trocador de calor de superfície raspada (Figura 3.9), a 120°C por 5 segundos, a uma vazão de 65 L/h. O resfriamento foi feito até a temperatura de 40°C.
- ★ Envase – o repositivo foi envasado nas garrafas em sistema contínuo, diretamente do trocador de calor (Figura 3.10), à temperatura final do resfriamento (40°C), na câmara de fluxo laminar (Figura 3.5). Em seguida foram resfriadas em banho de gelo até a temperatura ambiente (25°C).
- ★ Armazenamento – as garrafas de vidro e de PET foram armazenadas em estufa com temperatura controlada a 25°C, durante 90 dias.

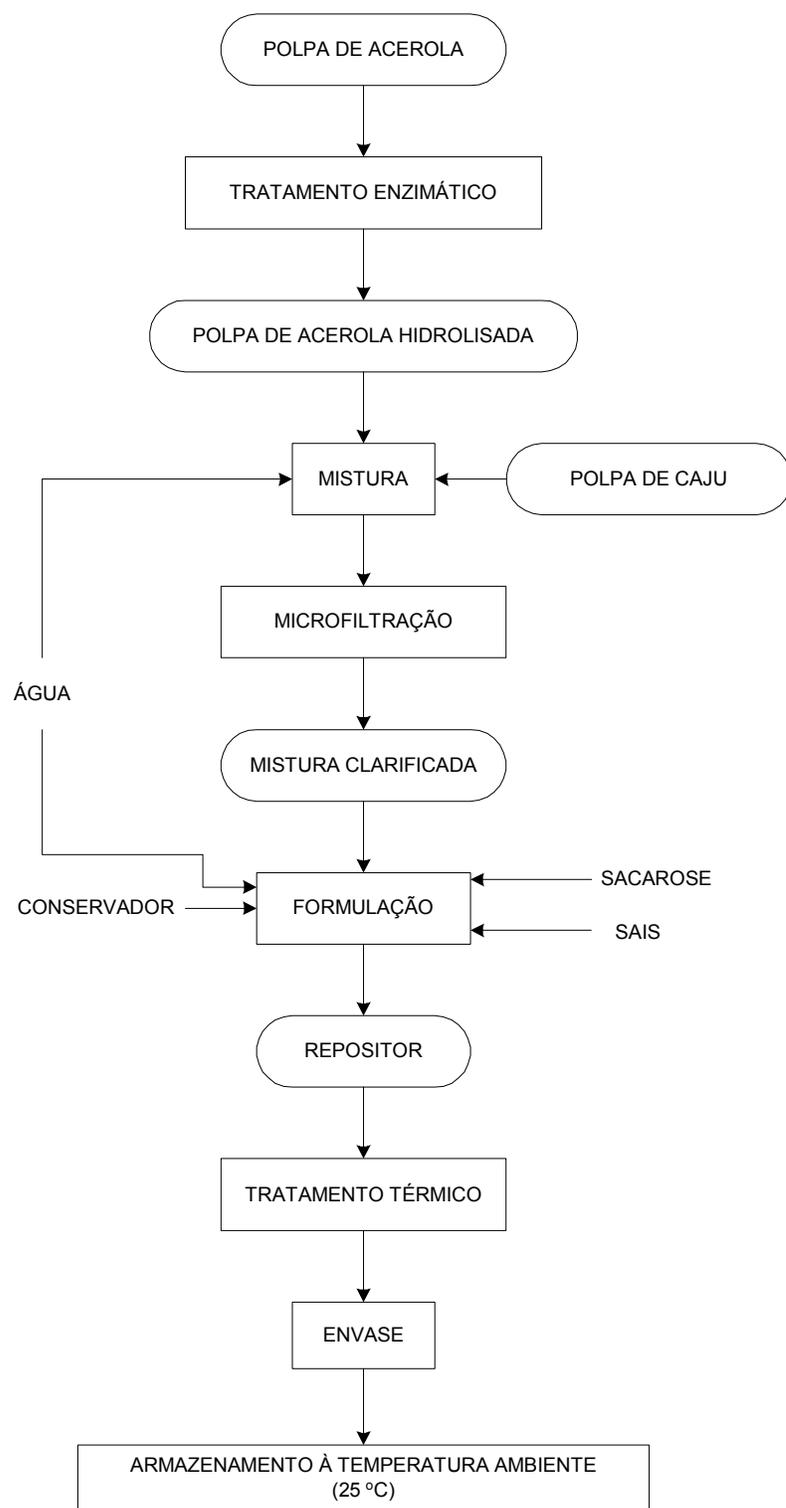


Figura 3.7. Fluxograma esquemático do processo de obtenção do reposit. hidroeletrolítico clarificado e esterilizado (processo C).



Figura 3.8. Microfiltração da mistura de sucos e água com recolhimento do permeado em sistema aberto, para o processo C



Figura 3.9. Esterilização em trocador de calor de superfície raspada



Figura 3.10. Envase contínuo na câmara de fluxo laminar para envase asséptico com controle automático de enchimento.

Os três processos descritos foram retomados para avaliação da aceitabilidade do repositor, modificando-se apenas a etapa de envase, quando o produto foi acondicionado em bombonas de 5 L, resfriado, transportado em banho de gelo e mantido à temperatura de aproximadamente 10°C, sendo, em seguida, oferecido aos consumidores. Estes últimos processos foram denominados A1, B1 e C1, assim como seus produtos. Não foi possível, entretanto, considerar-se estes três processos como repetição dos experimentos finais (processos A, B e C). A utilização de bombas hidráulicas diferentes para alimentação do sistema de microfiltração não permitiu condições de reprodutividade nestes experimentos. O mesmo ocorreu com a polpa de acerola utilizada, adquirida, despulpada e congelada, para a imediata obtenção dos produtos avaliados quanto à sua aceitabilidade em campo.

### 3.2.3 – Análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais

Em todos os processos foram recolhidas amostras de cada uma das etapas, para realização das determinações analíticas, descritas a seguir. As análises foram realizadas em duplicata, para os teores de sais e açúcares, e, em triplicata, para as demais determinações. Os teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, acidez, pH, turbidez e cor instrumental (*Hunter*), turbidez nefelométrica do repositório, bem como as suas condições microbiológicas, foram avaliados, também, a cada 15 dias, durante os 90 dias do armazenamento. Nos ensaios para o estudo da estabilidade da bebida, bem como nos experimentos finais, foram determinadas a composição centesimal e a osmolalidade dos repositores hidroeletrólíticos obtidos.

- Ácido ascórbico – determinado por volumetria de oxi-redução, titulando-se as amostras com solução de 2,6–diclorofenol–indofenol–sódico, segundo método de nº 43.056 (ASSOCIATION OF OFFICIAL..., 1984), modificado por BENASSI (1990) e SILVA (1999).
- Acidez titulável – segundo método titulométrico utilizando hidróxido de sódio e indicador fenolftaleína (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985). Os resultados foram expressos em g de ácido málico por 100 g do produto.
- pH – foi determinado em potenciômetro marca Micronal, modelo B374, com calibração feita com soluções tampão de referência Merck, pH 7,0 e 4,0, segundo método do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1985).
- Sólidos solúveis – medidos por leitura direta em refratômetro de bancada Bellingham Stanley Limited, em graus Brix. Com correção da leitura pela temperatura ambiente (ASSOCIATION OF OFFICIAL..., 2000).

- Açúcares – os teores de glicose, frutose e sacarose foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando-se padronização externa, nas seguintes condições: coluna Water Sugar Pak (250 x 4,6 mm); fase móvel água, vazão 0,6 mL/minuto. Cromatógrafo líquido de alta resolução composto de: bomba quaternária Waters 600; detetor de índice de refração Modelo Waters 2310; forno para colunas Waters mantido a 90°C; injetor automático Waters 717 Plus; volume de injeção 200 µL (MELLO e CASTRO, 1999).
- Minerais – os teores de sódio e potássio foram determinados por espectrometria de emissão por plasma induzido. Cerca de 1 g da amostra foi pesado e digerido com 6 mL de ácido nítrico e 1 mL de peróxido de hidrogênio em digestor de microondas marca *Milestone*. A amostra, após digerida, foi transferida para balão volumétrico de 50 mL e completado o volume com água Milli-Q, procedendo-se a leitura no espectrômetro. Foi construída uma curva de calibração para os elementos sódio e potássio com as concentrações 0, 1, 5, 10 e 0, 1, 5, 25 e 60 mg/L, respectivamente (WHITE JR. e DOUTHIT, 1985).
- Cloreto – os teores de cloreto foram determinados por cromatografia de íons. Dois cromatógrafos foram utilizados. No primeiro momento as determinações foram realizadas em um cromatógrafo da marca *Metron*, nas seguintes condições: coluna *Metron A Supp 4* (250 x 4 mm), pressão de 6,5 Pa, vazão 1 mL/minuto, temperatura fixa de 25°C, tampão de carbonato de sódio e bicarbonato de sódio (20 mmol), pH 9. As amostras foram preparadas por filtração em *Millipore* e diluição em 100 vezes, segundo o manual do equipamento. Num segundo momento, utilizou-se um cromatógrafo da marca *Dionex* com as seguintes

condições: coluna AS4A-SC + AG4A-SC, eluente carbonato de sódio 1,8 mM e bicarbonato de sódio 1,7 mM, pressão 1500 psi, vazão 1,2 mL/min, célula de condutividade.

- Composição centesimal – foram determinados umidade, cinzas, proteína e carboidratos. A umidade foi determinada por pressão reduzida, segundo método 934.01 item 4.1.03 (ASSOCIATION OF OFFICIAL..., 2000). As cinzas foram determinadas pelo método 923.03 item 32.1.05 (ASSOCIATION OF OFFICIAL..., 2000). A proteína foi determinada por Kjeldahl tradicional, método 46.13 modificado (catalisador  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{CuSO}_4$  e Se; titulante  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,1N) (AMERICAN ASSOCIATION..., 1997). Os carboidratos foram determinados por diferença.
- Valor energético – foram considerados os valores de energia metabolizável, ou energia fisiologicamente disponível (kcal/g). Para tanto, são aceitos os valores aproximados de 4 kcal/g para os carboidratos e proteínas (CUPPARI, 2002; KRAUZE, 2002).
- Cor e turbidez – realizada pela medida da transmitância no S&M Colour Computer, modelo SM-4-CH, com abertura de 30 mm de diâmetro, pela determinação dos valores Hunter de luminosidade (L), intensidade de vermelho (a), intensidade de amarelo (b) e turbidez (*haze*), medidos em relação à placa de petri (L=100,01; a = 0,04; b = 0,03), sendo L = luminosidade (0 - preto; 100 – branco); a = - 80 a 0 (verde) e 0 a + 100 (vermelho); b = -100 a 0 (azul) e 0 a + 70 ( amarelo);  $\Delta E$  = diferença total de cor ( $\sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta B)^2}$ ) (FERREIRA, 1981).

- Turbidez nefelométrica – determinada em NTU (unidade de turbidez nefelométrica) em turbidímetro portátil (Pocket Turbidimeter Instrument), Hach Company, leitura direta de 0 a 400 NTU, segundo o manual do equipamento.
- Análises microbiológicas – foram realizadas pesquisas de *Salmonella* (em 25 mL), coliformes totais e fecais (NMP/mL), contagem padrão em placas (UFC/mL), fungos filamentosos e leveduras (UFC/mL), segundo metodologia analítica da *American Public Health Association* (COMPENDIUM..., 1995).
- Osmolalidade – determinada utilizando-se osmômetro de pressão de vapor, *Knauer* modelo AO280, que mede o número de partículas osmoticamente ativas de uma solução. É constituído por dois termistores pareados localizados dentro de uma célula saturada com vapor de solvente, que neste estudo foi água deionizada. O osmômetro emite sinais gerados pela diferença de temperatura entre os termistores, que sustentam, cada um deles, uma gota do solvente e uma gota da amostra. Estes sinais são proporcionais à concentração osmolal da solução analisada. Os sinais obtidos para cada amostra foram convertidos em osmolalidade por substituição na equação de regressão linear de uma curva de calibração feita a partir de soluções de cloreto de sódio em concentração conhecida, variando de 0,2 a 0,8 osmolal. As medidas foram realizadas em triplicata, à temperatura de 50°C na célula de inserção da amostra, com intervalo de leitura de 3 minutos. A escala de sensibilidade escolhida foi a faixa de 32, pois compreende valores de osmolalidade de 100 a 800 mOsmol/Kg.

- Análise sensorial (DELLA MODESTA, 1994)

Teste de preferência – as misturas de sucos como base para formulação do repositor foram submetidas a testes sensoriais de preferência conforme descrito no item 3.2.1.2.

Teste de aceitabilidade – os repositores obtidos nos três diferentes processos estudados foram submetidos a testes sensoriais, para avaliação da aceitabilidade e intenção de compra dos mesmos. Os testes foram realizados em uma academia de ginástica no Rio de Janeiro, com voluntários praticantes de atividade física, consumidores potenciais de repositores hidroeletrólíticos. A bebida foi servida à temperatura de 10°C. Cada um dos produtos foi testado em ocasiões distintas por 100 voluntários presentes na academia, após realizarem sua atividade física. Os provadores foram indagados se eram consumidores desse tipo de produto e, após o experimentarem, o quanto gostaram e se o comprariam. Utilizou-se para essa avaliação uma escala hedônica de 7 pontos.

### **3.2.4 – Análise estatística**

#### 3.2.4.1 – Testes de preferência

Nos testes de preferência (item 3.2.1.2), para definição da mistura de sucos, base da formulação do repositor, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%. Para os cálculos da análise de variância foi utilizado o Minitab, versão 10.0. O teste de Tukey foi utilizado segundo GOMES (1990).

### 3.2.4.2 – Estudo da estabilidade dos produtos obtidos nos Processos A, B e C

Para o tratamento dos dados do estudo de estabilidade utilizou-se um modelo de análise de variância em parcelas divididas.

O fator Processo (P) foi considerado como parcela inteira em três níveis e na parcela dividida (sub-parcela) foram considerados os fatores Tempo, em seis níveis (tempo 1 ao tempo 6), e Embalagem, em 2 níveis (de PET e de vidro), em virtude da aleatorização dos frascos.

Considerou-se o tempo zero como co-variável no modelo de análise de variância. Este procedimento evitou que as diferenças existentes nos produtos, em seu tempo zero, influenciassem a análise das variações durante o estudo de sua estabilidade.

As variáveis avaliadas, respostas do estudo da estabilidade, foram o teor de ácido ascórbico, o teor de sólidos solúveis, a acidez titulável, a turbidez nefelométrica e os parâmetros de cor instrumental: luminosidade ( $L_{\text{Hunter}}$ ), intensidade de vermelho ( $a_{\text{Hunter}}$ ), intensidade de amarelo ( $b_{\text{Hunter}}$ ) e a turbidez. A estabilidade das bebidas foi avaliada pelo período de 90 dias em armazenamento sob refrigeração (4°C), para os processos A e B, e à temperatura ambiente (25°C) para o Processo C, conforme item 3.2.2.

Como não houve replicação dos processos durante o experimento, foi necessário considerar a interação Processo\*Tempo\*Embalagem, com dez graus de liberdade (gl) como resíduo, a fim de testar os demais efeitos presentes nas sub-parcelas. Estes efeitos são: T (5 gl), E (1gl). P\*T (10 gl), P\*E (2 gl) e T\*E (5 gl), que

representam os efeitos do tempo, embalagens, interação processo\*tempo, interação processo\*embalagem e interação tempo\*embalagem, respectivamente.

A interação P\*T na análise de algumas variáveis foi significativa, seguindo-se à análise dos processos A, B e C separadamente. Foram considerados, nos modelos, os termos T, E e T\*E. Utilizou-se o teste de não-aditividade de Tukey para a interação T\*E. Os efeitos T e E foram testados usando-se o termo T\*E como erro, quando o teste de não-aditividade foi não-significante. A interação T\*E não-significante implica que os resultados dos testes de comparação entre PET e vidro valem para qualquer resultado do teste de comparação entre tempos (estabilidade), assim como os resultados dos testes de estabilidade valem para qualquer uma das embalagens (BOX *et al.*, 1978).

Quando praticamente não houve variabilidade entre os valores de alguma resposta, em relação aos fatores do modelo, o quadrado médio foi aproximadamente zero. No caso da interação, não foi possível testar, então, os fatores T e E. Portanto, para os fatores T e E, quando o quadrado médio foi zero, considerou-se o efeito não significativo.

Foram considerados significativos todos os efeitos principais e suas interações para os quais as significâncias dos testes foram menores ou iguais a 5%.

O aplicativo utilizado para os cálculos da análise de variância em parcelas divididas foi "STATISTICA", versão 6.0, módulo MANOVA (Análise de variância multifatorial). Para os testes de não-aditividade foi usado o aplicativo "SPSS", versão 8.0.

#### 3.2.4.3 – Aceitabilidade dos produtos obtidos nos Processos A1, B1 e C1

Na avaliação da aceitabilidade dos três produtos utilizou-se o teste de Cochran-Mantel-Haenszl, usando escores iguais aos *ranks* (postos), para comparar os produtos quanto ao quesito gostar, cujas respostas podem ser ordenadas de acordo com a intensidade de se gostar do produto. O teste de Cochran-Mantel-Haenszl para associação, controlando por grupo de voluntários que testou cada produto, foi utilizado para avaliar a associação entre as variáveis do questionário. Empregou-se o teste exato de Fisher para testar a igualdade entre os grupos de voluntários quanto ao hábito de consumo e quanto à intenção de compra (AGRESTI, 1990). O sistema de programas SAS, versão 8.2, foi utilizado para o desenvolvimento dos testes.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 – EXPERIMENTOS PRELIMINARES

#### 4.1.1 – Microfiltração das polpas de acerola e caju

As Tabelas 4.1 e 4.2 apresentam as características dos sucos clarificados de acerola e de caju, que foram utilizados como base para a determinação da mistura de sucos do repositivo hidroeletrólítico, nos testes sensoriais.

Tabela 4.1. Características físico-químicas dos sucos clarificados de caju e de acerola

Parâmetro	Suco clarificado de caju	Suco clarificado de acerola
Ác. Ascórbico (mg/100g)	153	1195
Sólidos solúveis (°Brix)	10,4	6,9
pH	3,96	3,54
Acidez (g ác.málico/100g)	0,48	1,35
L <sub>Hunter</sub>	99,8	67,4
a <sub>Hunter</sub>	- 0,4	48,3
b <sub>Hunter</sub>	1,5	26,3
Turbidez (NTU)	2,33	nr
Turbidez	nr	59,8

nr – não realizado

A qualidade microbiológica dos sucos clarificados de acerola e de caju foi assegurada pela microfiltração. Os resultados das análises microbiológicas atestaram que o produto atendeu às exigências da legislação vigente (BRASIL, 2001).

Tabela 4.2. Composição em minerais (em mg/100g) e açúcares (em g/100g) dos sucos clarificados de caju e de acerola

Parâmetro	Suco clarificado de caju	Suco clarificado de acerola
Sódio	40,96	0,88
Potássio	120,98	137,44
Ferro	0,12	0,04
Cálcio	0,37	5,82
Fósforo	7,04	8,20
Magnésio	10,22	9,94
Frutose	2,09	2,23
Glicose	2,12	1,81
Sacarose	0,09	nd

nd – não detectado

As Figuras 4.1 e 4.2 apresentam os comportamentos dos fluxos de permeado da microfiltração das polpas de acerola e de caju, respectivamente, com relação ao tempo do processo.

O fluxo médio de permeado no processamento da polpa de acerola foi de 77 L/hm<sup>2</sup>. Observou-se um aumento do fluxo de permeado ao final do processamento, provavelmente pela ação residual da enzima pectinolítica, com redução dos fenômenos de polarização da concentração e formação da camada de gel, que normalmente afetam o desempenho dos processos com membranas, comportamento também relatado por MATTA *et al.* (2004a).

MATTA *et al.* (2000a) relataram um fluxo médio de 109 L/hm<sup>2</sup> na microfiltração de polpa de acerola, em condições de processo semelhantes. Entretanto, em trabalho

posterior, que avaliou a estabilidade do suco de acerola clarificado por microfiltração, o fluxo médio de permeado obtido por eles foi de 58 L/hm<sup>2</sup> (MATTA *et al.*, 2004b).

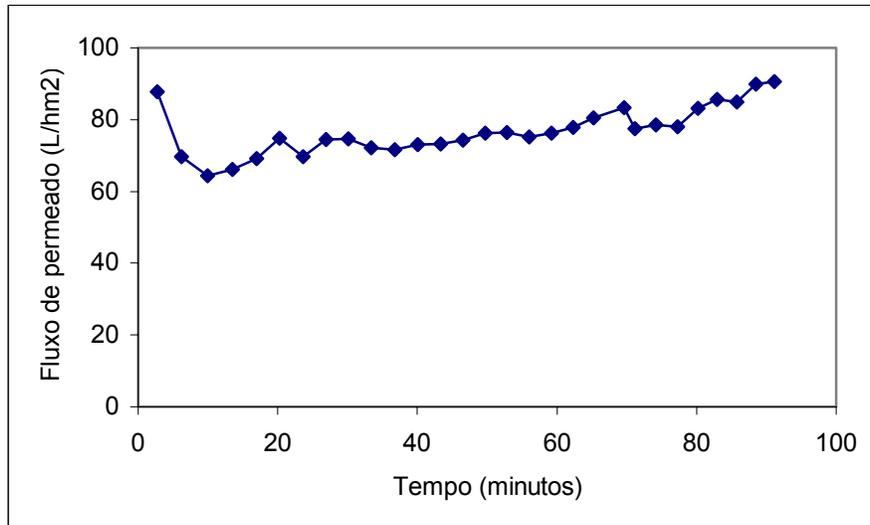


Figura 4.1. Fluxo de permeado na microfiltração da polpa de acerola

No processamento da polpa de caju, o fluxo médio foi de 67 L/hm<sup>2</sup>. CAMPOS *et al.* (2002a) obtiveram valores de fluxo na mesma faixa, em torno de 70 L/hm<sup>2</sup>, quando microfiltraram polpa de caju submetida a diferentes tratamentos enzimáticos, visando a redução dos teores de taninos.

O fluxo de permeado da polpa de caju, ao contrário da polpa de acerola, apresentou uma redução acentuada nos primeiros 20 minutos, com estabilização após esse tempo, comportamento usual nos processos de microfiltração (CHERYAN, 1998).

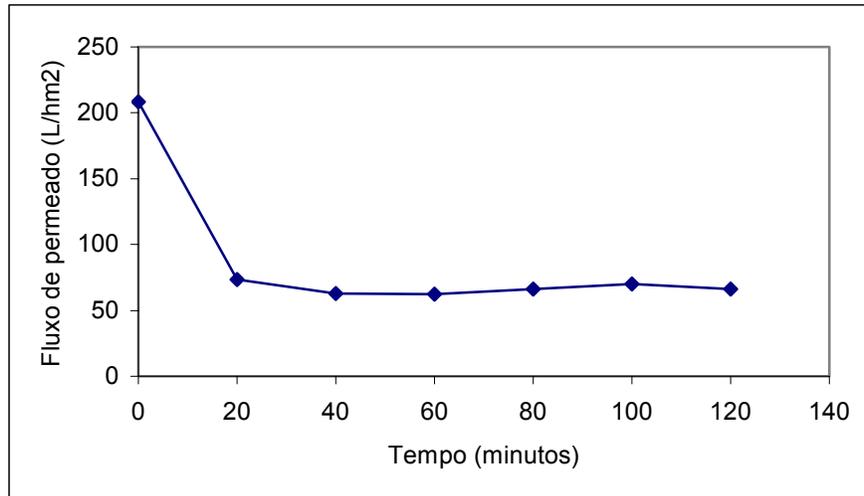


Figura 4.2. Fluxo de permeado na microfiltração da polpa de caju

#### 4.1.2 – Definição da mistura de sucos

Os três testes sensoriais de preferência (I, II, III), realizados com as bebidas obtidas a partir dos sucos clarificados de acerola e caju, permitiram definir a melhor mistura para a formulação do repositores hidroeletrolítico.

No teste I, a formulação com 20% de acerola e 80% de caju apresentou a maior média, não apresentando diferença significativa com relação à média da formulação com 50% de acerola e 50% de caju. Essas médias foram consideradas entre “não gostei/nem desgostei” e “gostei ligeiramente”. A formulação com 40% de acerola e 60% de caju foi a menos preferida, diferindo significativamente dos demais, com média entre “desgostei ligeiramente” e “não gostei/nem desgostei”. A Tabela 4.3 mostra que, houve diferença significativa entre as formulações. Concluiu-se que, nesse teste, as amostras preferidas como base para o repositores hidroeletrolítico foram aquelas com 20% e 50% de acerola. Curiosamente, os dois extremos de concentração dos sucos de acerola e de caju foram os preferidos.

Tabela 4.3. Médias da preferência de bebida de acerola com caju no teste I

Formulação	Preferência
20% de acerola + 80% de caju	5,6 <sup>a</sup>
40% de acerola + 60% de caju	4,6 <sup>b</sup>
50% de acerola + 50% de caju	5,2 <sup>a</sup>
F <sub>amostra</sub>	4,87*

\*significativo ao nível de 5%

No teste II, as misturas foram preparadas com maiores concentrações de suco clarificado de acerola. Como pode ser observado na Tabela 4.4, não houve diferença significativa entre as três formulações, portanto, não foram definidas preferências entre as proporções testadas. Todas as médias obtidas foram consideradas entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Entretanto, pode-se observar que houve uma elevação nas médias dessas três misturas quando comparadas àquelas do teste I, com maior concentração do suco clarificado de caju, o que poderia representar uma tendência de preferência pelas formulações com maior proporção do suco clarificado de acerola.

Tabela 4.4. Médias da preferência de bebida de acerola com caju no teste II

Formulação	Preferência
80% de acerola + 20% de caju	6,2
70% de acerola + 30% de caju	6,4
60% de acerola + 40% de caju	6,4
F <sub>amostra</sub>	0,36 <sup>ns*</sup>

\*ns - não significativa

No terceiro teste de preferência (III) o açúcar foi adicionado em 6,5% (v/v), uma concentração menor que a utilizada no teste II, em função da osmolalidade da formulação final.

As médias alcançadas no teste III (Tabela 4.5) foram inferiores às obtidas no teste II, onde as avaliações variaram de “gostei ligeiramente” a “gostei moderadamente”. A bebida com 100% de acerola alcançou média de 3,8 sendo a menor das três, correspondendo de “desgostei moderadamente” a “desgostei ligeiramente”. Embora a bebida com 100% de suco clarificado de caju tivesse alcançado a maior média (6,1), não diferiu significativamente da média obtida pela bebida com 70% de suco clarificado de acerola e 30% de suco clarificado de caju (5,7). Assim, optou-se pela formulação com 70% de acerola e 30% de caju para base do repositores hidroeletrolítico, por apresentar um teor de vitamina C mais elevado.

Tabela 4.5. Médias da preferência de bebida de acerola com caju no teste III

Formulação	Preferência
100% de suco clarificado de acerola	3,8 <sup>b</sup>
70% de acerola + 30% de caju	5,7 <sup>a</sup>
100% de suco clarificado de caju	6,1 <sup>a</sup>
F <sub>amostra</sub>	28,22*

\*significativo ao nível de 5%

Os provadores participantes dos três testes de preferência, realizados no Laboratório de Análise Sensorial da Embrapa, não estavam habituados com as características dos repositores hidroeletrolíticos. Por esse motivo, talvez esperassem encontrar no produto o sabor característico e doce dos refrescos de

frutas, o que pode explicar a diminuição da média obtida pela mistura de 70% de suco clarificado de acerola e 30% de suco clarificado de caju entre os testes II e III, já que neste último a concentração de sacarose foi menor.

BROUNS e KOVACS (1997) afirmaram que o gosto é influenciado pelo nível de atividade física. As bebidas que têm boa aceitação quando seus consumidores estão em repouso podem parecer muito doces durante a atividade física em altas temperaturas ambiente. Assim, eles recomendaram a realização de testes em campo, em situações de exercício físico, para a avaliação dos produtos desenvolvidos com a finalidade de repor líquidos, eletrólitos e retardar a fadiga.

As baixas médias obtidas nos três testes de preferência realizados no Laboratório de Análise Sensorial, cuja melhor avaliação foi “gostei moderadamente”, reforçaram a decisão pela realização em campo, dos testes de aceitabilidade e intenção de compra da bebida formulada. Considerou-se como a melhor alternativa para a avaliação final do repositor, a participação dos consumidores potenciais deste produto, no próprio local onde praticam atividade física.

Ao desenvolver um repositor energético, PIERUCCI (1999) definiu sua consistência a partir dos resultados do teste de preferência. Avaliando o produto final, elaborado em três sabores, com a participação de 51 atletas, obteve uma aceitabilidade global de 82% a 100%, valores mais favoráveis do que os obtidos no teste de preferência.

### **4.1.3 – Ensaio de microfiltração da bebida**

#### Características físico-químicas

Nos três ensaios de microfiltração da bebida, a composição da mistura alimentada constituiu-se de uma parte (33%) da mistura de 70% polpa de acerola hidrolisada e de 30% da polpa de caju, duas partes (67%) de água filtrada, sacarose (7%) e citrato de sódio (0,17%). Tanto na adição do açúcar quanto do sal de sódio, as quantidades foram aumentadas em 10% e 20%, respectivamente, a fim de corrigir possíveis retenções na membrana de microfiltração (TODISCO, 1996; MATTA, 1999; VAILLANT et al. 1999; CAMPOS, 2002).

A hidrólise da polpa de acerola possibilitou a quebra de macromoléculas como pectina, amido e celulose, com conseqüente redução da viscosidade aparente da polpa, visando um melhor desempenho nos processos com membranas. MATTA (1999) reportou, com o tratamento enzimático utilizado (0,1 mL/L de enzima pectinolítica por 30 minutos), uma redução da viscosidade aparente da polpa de acerola (104 mPa.s), em torno de 70%, o que propiciou um aumento de cerca de 100% no fluxo médio de permeado da microfiltração. RODRIGUES (2002a) relatou uma redução de 44% da viscosidade aparente da polpa de camu-camu, quando utilizou as mesmas condições de tratamento enzimático, afirmando que esse procedimento facilitou os seus processos subseqüentes de microfiltração e ultrafiltração.

Os valores médios das características físico-químicas das polpas de acerola hidrolisada e de caju, da mistura alimentada e do repositivo, nos testes de microfiltração a partir da formulação definida, estão apresentados nas Tabelas 4.6 e 4.7.

A perda de ácido ascórbico entre as etapas de alimentação e microfiltração foi da ordem de 20%. O pequeno volume de mistura alimentada utilizado, 4400 mL, pode ter aumentado a turbulência no tanque de alimentação, com conseqüente aumento da aeração no sistema, ocasionando uma maior perda de ácido ascórbico entre as amostras da mistura alimentada e da bebida clarificada. A maior variação entre as médias dos três processamentos ocorreu nos teores de ácido ascórbico do repositior, como conseqüência das diferentes perdas deste nutriente, nos ensaios realizados.

Tabela 4.6. Valores médios<sup>1</sup> de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez, obtidos nas etapas dos ensaios de microfiltração da bebida

Parâmetro	Polpa de caju	Polpa de acerola hidrolisada	Mistura alimentada	Repositor
Ácido ascórbico (mg/100g)	150 ± 6	1555 ± 69	384 ± 12	295 ± 39
Sólidos solúveis (°Brix)	9,1 ± 0,7	9,5 ± 0,2	10,1 ± 0,8	7,7 ± 0,4
pH	4,09 ± 0,20	3,56 ± 0,10	4,10 ± 0,04	4,07 ± 0,10
Acidez (g ác. málico/100g)	0,50 ± 0,05	1,52 ± 0,20	0,38 ± 0,06	0,28 ± 0,02

<sup>1</sup> Média de três processamentos

A retenção média dos sólidos solúveis na membrana (em torno de 22%) ficou acima dos 10% estimados como margem de segurança na adição da sacarose (TODISCO, 1996; MATTA, 1999; VAILLANT et al. 1999; CAMPOS, 2002). Este resultado sugeriu que se estudasse também um outro processo, no qual a adição da sacarose e dos sais ocorresse após a microfiltração dos sucos, o que poderia

minimizar as perdas e possibilitaria alcançar os teores desejados destes ingredientes, no repositores hidroeletrolítico.

O pH não sofreu alteração entre as etapas de mistura e microfiltração, enquanto que a acidez titulável foi reduzida em 26%. MATTA (1999) relatou uma redução significativa na acidez titulável das amostras de permeado, em seus processos de microfiltração da polpa de acerola.

Tabela 4.7. Valores médios<sup>1</sup> dos teores de sódio, cloreto, potássio (em mg/100g) e de glicose, frutose e sacarose (em g/100g), obtidos nos ensaios de microfiltração da bebida

Parâmetro	Polpa de caju	Polpa de acerola hidrolisada	Mistura alimentada	Repositor
Sódio	36,57 ± 8,30	1,09 ± 0,10	48,63 ± 5,00	37,94 ± 2,00
Potássio	101,87 ± 4,30	215,03 ± 0,60	53,24 ± 6,40	41,89 ± 3,30
Cloretos	11,28 ± 4,70	19,44 ± 2,40	5,44 ± 6,90	10,60 ± 5,90
Glicose	3,66 ± 0,80	1,52 ± 0,20	3,31 ± 0,80	1,40 ± 0,60
Frutose	3,91 ± 1,50	2,14 ± 0,40	3,24 ± 1,30	1,22 ± 0,40
Sacarose	0,19 ± 0,04	nd	1,73 ± 1,50	4,09 ± 0,20

<sup>1</sup>Média de três processamentos. nd – não detectado

A perda de 22% de sódio durante a microfiltração esteve na faixa esperada, o mesmo ocorrendo com o potássio, com retenção de 21%. O aumento do teor de cloretos entre a mistura alimentada e o repositores deveu-se, provavelmente, pela inadequação do método analítico utilizado inicialmente. A partir destes resultados a determinação de cloretos foi realizada por cromatografia de íons, conforme descrito em Material e Métodos (item 3.2.3).

A média do teor de açúcares totais no repositório, de 6,7 g/100g, significa que houve 19% de retenção dos mesmos na microfiltração. Os açúcares totais estão representados na mistura alimentada e no repositório, tanto pela adição da sacarose, quanto pela glicose e frutose existentes naturalmente na mistura alimentada, provenientes da composição das polpas de acerola e de caju.

Observou-se, entretanto, uma inversão da sacarose adicionada à mistura alimentada, ou seja, o teor de açúcares redutores encontrado nesta etapa do processo foi maior que o existente na composição dos frutos, ao mesmo tempo que o teor de sacarose foi muito inferior ao adicionado (7,7 g/100g). Pode também ter ocorrido alguma inversão da sacarose no repositório, onde os teores de sacarose, glicose e frutose apresentaram o mesmo comportamento verificado na mistura alimentada, embora em menor proporção (Tabela 4.7).

A inversão da sacarose pode ser resultado da ação da invertase endógena, presente nas frutas, que em condições apropriadas reage imediatamente no seu substrato. A invertase é a enzima chave do metabolismo das frutas e está envolvida no processo de maturação das mesmas (SANCHES *et al.*, 1998; DARNELL *et al.*, 1994). Sendo uma enzima endógena, a invertase pode ser liberada na extração dos sucos, ocasionando a inversão da sacarose presente. A ação da invertase foi estudada em diferentes sucos, tais como uva (FUJIWARA *et al.*, 1999), papaia (GRAY e MOWER, 1991) e lima da Pérsia (ECHEVERRIA e BURNS, 1989).

Desta forma, para explicar a inversão da sacarose, procurou-se determinar a atividade da enzima invertase (EC 3.2.1.26) nas polpas de caju e acerola,

utilizando o método reportado por HSIAO *et al.* (2002), no qual a quantificação dos açúcares redutores é feita segundo SOMOGYI (1952).

A polpa de acerola analisada apresentou uma atividade de 0,12 U/mL de amostra (1 unidade de enzima corresponde a 1  $\mu$ mol de açúcar redutor liberado, por minuto de reação, a 30°C). Na polpa de caju, porém, não foi encontrada atividade de invertase, o que, talvez, possa ser atribuído às condições e tempo de armazenamento desta polpa, adquirida congelada no mercado local, podendo ocasionar a sua desnaturação e perda da sua atividade. Em contrapartida, a acerola, adquirida *in natura*, foi processada sob condições controladas na planta piloto.

Uma atividade de invertase semelhante à determinada na polpa de acerola utilizada neste estudo foi referida por CANO-MEDRANO e DARNELL (1997), em um trabalho que comparou o metabolismo da sacarose e a maturação de mirtilos em frutos polinizados e não polinizados.

#### Desempenho médio dos três processamentos

A medida do fluxo de permeado é essencial para os estudos de escalonamento, avaliação da produtividade e viabilidade dos processos com membranas. As curvas de fluxo de permeado em função do tempo de processamento refletem o desempenho dos mesmos.

Os fluxos médios dos três processamentos relativos aos ensaios de microfiltração da bebida foram 51 L/hm<sup>2</sup>, 42 L/hm<sup>2</sup> e 69 L/hm<sup>2</sup>, e estão apresentados na Figura 4.4. Apesar do comportamento similar das curvas, no primeiro e no terceiro ensaios foram verificados melhores resultados do fluxo médio estabilizado. Esta

diferença pode ser explicada pela permeabilidade hidráulica da membrana, que foi maior nos processamentos onde foram atingidos fluxos de permeado mais altos. O valor médio do fluxo de permeado desses três ensaios de microfiltração da bebida foi de 54 L/hm<sup>2</sup> e o comportamento das curvas obedeceu ao modelo clássico dos processos de microfiltração, com acentuado declínio inicial e posterior estabilização do fluxo.

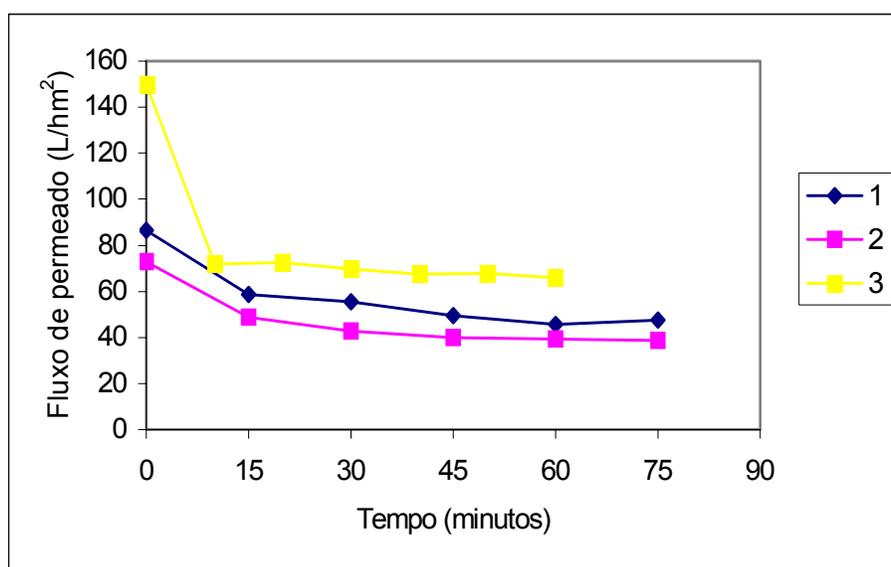


Figura 4.3. Fluxo de permeado em função do tempo, nos três ensaios de microfiltração da bebida

#### 4.1.4 – Ensaios para o estudo da estabilidade da bebida

##### 4.1.4.1 - Processo 1

##### Características físico- químicas

No primeiro ensaio para estudo da estabilidade da bebida (processo 1), a formulação sofreu algumas alterações. A adição da sacarose foi reduzida de 7,0% para 6,5%, a fim de reduzir a concentração total de carboidratos e a osmolalidade

da bebida, mantendo-se, entretanto, a mesma margem de segurança, referente às possíveis retenções de sólidos solúveis pela membrana. O teor de citrato de sódio foi reduzido de 0,17% para 0,06%, pois houve a adição de 0,06% de cloreto de sódio, como fonte de sódio e de cloreto, até então não adicionado à bebida.

Na sudorese são eliminadas altas quantidades de sódio e cloreto, superiores às de outros eletrólitos, desta forma, a reposição hídrica após exercícios somente será adequada se houver a reposição do sódio e também do cloreto eliminados através do suor (BERGERON, 2001).

O Colégio Americano de Medicina Esportiva recomendou, com relação à reposição das perdas pelo suor, que, após exercícios com duração maior que uma hora, seria adequada a adição de eletrólitos à água, principalmente cloreto de sódio, para aumentar a palatabilidade da bebida e prevenir o desenvolvimento de hiponatremia. Nessas situações, a quantidade de sódio indicada para as bebidas repositoras hidroeletrólíticas foi de 0,5 a 0,7 gramas de sódio por litro de água (ARMSTRONG, 2000).

A inclusão do cloreto de sódio na formulação dos repositores, a partir do processo 1, objetivou a oferta de cloreto juntamente com o sódio, em concentrações próximas àquelas dos produtos líderes de mercado. A legislação vigente para alimentos para praticantes de atividade física (BRASIL, 1998), determina que os repositores hidroeletrólíticos deverão ser formulados a partir de concentrações variadas de sódio, cloreto e carboidratos; opcionalmente, estes produtos podem conter potássio, vitaminas e/ou outros minerais.

SREBERNICH (1998), ao desenvolver um repositores hidroeletrólítico similar à água de coco verde, sugeriu a mistura de diferentes sais de sódio, para evitar a rejeição

da bebida, que poderia ocorrer com a utilização do cloreto de sódio como única fonte deste micronutriente no produto.

As formulações anteriores, utilizadas no presente trabalho, nas quais a fonte de sódio era somente o citrato de sódio, objetivaram que a bebida não apresentasse o sabor salgado, característico dos repositores comerciais.

Durante exercícios de alta intensidade, ocorre a liberação de ácido láctico no tecido muscular, causando fadiga. O bicarbonato presente no plasma mantém o equilíbrio ácido-básico pelo tamponamento dos ions hidrogênio liberados com o lactato. O uso de bicarbonato de sódio em repositores hidroeletrólíticos já foi proposto com este fim. Entretanto, mesmo que o uso do bicarbonato de sódio possa ser útil, vários estudos reportaram efeitos colaterais desagradáveis, incluindo náuseas e diarréia. A inclusão do citrato de sódio na formulação da bebida torna-se interessante, pelo seu efeito tampão semelhante ao do bicarbonato e por que é oxidado a dióxido de carbono, não induzindo a qualquer desconforto gástrico (WOLINSKY e HICKSON JR, 1996; FORD, 1995).

A Tabela 4.8 apresenta os teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez titulável dos produtos, nas diferentes etapas do processo 1.

Neste processo a perda de ácido ascórbico entre a mistura alimentada e o repositores foi de aproximadamente 6,5%, na mesma faixa das perdas reportadas por MATTA (1999), de 4,5%, e por NEVES *et al.* (1998), que observaram uma retenção de 4,0%, para o suco de acerola microfiltrado. RODRIGUES *et al.* (2002a), entretanto, citaram uma redução de apenas 0,5% de ácido ascórbico durante a microfiltração do suco de camu camu.

Tabela 4.8. Teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez titulável dos produtos nas etapas do processo 1

Parâmetro	Polpa de caju	Polpa de acerola hidrolisada	Mistura alimentada	Repositor
Ác. ascórbico (mg/100g)	232 ± 4	1486 ± 18	361 ± 11	338 ± 9
Sólidos solúveis (°Brix)	11,5 ± 0,1	9,0 ± 0,1	10,3 ± 0,1	8,6 ± 0,2
pH	3,97 ± 0,01	3,61 ± 0,00	3,92 ± 0,00	3,86 ± 0,00
Acidez (g ác.málico/100g)	0,68 ± 0,00	1,32 ± 0,00	0,37 ± 0,02	0,32 ± 0,00

Com relação aos sólidos solúveis, os 16,5% de perda são compatíveis com os resultados reportados por TODISCO *et al.* (1996), que observaram uma retenção de 20% na microfiltração de suco de laranja. SILVA (2003) reportou uma retenção de 6,0% nos sólidos solúveis, quando microfiltrou suco de maracujá orgânico, após hidrólise enzimática. Estudando a microfiltração de polpa de caju em membranas cerâmicas e poliméricas, MATTA *et al.* (2003) verificaram que a retenção de sólidos solúveis foi maior na membrana polimérica, sendo da ordem de 5% a 10%.

A grande variação verificada nos dados da literatura com relação às retenções de sólidos solúveis nos processos de microfiltração sugerem que as mesmas possam estar relacionadas com a composição dos sucos estudados. Outros fatores que podem contribuir para a maior ou menor retenção de sólidos solúveis são as condições operacionais, como o uso de *finisher* em polpas industrializadas; a concentração e o tipo de enzima empregada; o diâmetro médio dos poros das membranas; o tipo de membrana utilizada e a colmatação da membrana.

A redução da acidez titulável de 13,5% foi mais baixa que a redução (17,5%) encontrada por CAMPOS *et al.* (2002b), na clarificação da polpa de caju. Por sua vez, SILVA (2003), estudando a qualidade de suco de maracujá orgânico microfiltrado, relatou uma redução de acidez em torno de 7,0% no suco clarificado.

A composição em minerais e açúcares da mistura alimentada, assim como do repositivo, no processo 1, estão apresentadas na Tabela 4.9.

Tabela 4.9. Teores de sais (mg/100g) e de açúcares (g/100g) da mistura alimentada e do repositivo, no processo 1

Parâmetro	Mistura alimentada	Repositor
Sódio	51,10	44,54
Potássio	59,77	51,76
Cloreto	39,36	34,56
Glicose	4,08	2,29
Frutose	4,01	2,33
Sacarose	nd	1,34

nd – não detectado.

Foram observadas reduções nos teores de sódio e potássio de 13,5% e 13,4%, respectivamente, valores estes menores que aqueles verificados nos ensaios de microfiltração da bebida formulada. O mesmo ocorreu com o teor de cloreto (12,7%).

Quanto aos açúcares totais, a redução de 8,09 g/100g na mistura alimentada para 5,96 g/100g no repositivo indica uma retenção de 26% na etapa de microfiltração, superior aos 19% retidos no ensaio anterior. Na mistura alimentada houve uma

completa inversão da sacarose em açúcares redutores, embora o teor de açúcares totais esteja compatível com o que foi adicionado e com glicose e frutose provenientes das polpas utilizadas. No repositório, a inversão da sacarose ocorreu em menor proporção, ainda que os açúcares redutores apareçam em concentrações muito maiores que as desejadas, similar ao ocorrido nos ensaios de microfiltração da bebida (item 4.1.3, Tabela 4.7) e no Processo A dos experimentos finais. MATTA *et al.* (2004a) reportaram uma retenção de 14% no teor de carboidratos durante a microfiltração de polpa de acerola.

A osmolalidade da bebida obtida no processo 1 foi de 438 mOsmol/L. Este valor elevado pode ser explicado pelos teores de frutose e glicose do repositório. Provavelmente, a inversão da sacarose, pela ação da invertase encontrada no suco de acerola, foi responsável pelos teores de açúcares redutores, tanto na mistura alimentada quanto no repositório. Como se pretendia obter um produto com a osmolalidade em torno de 350 mOsmol/L até um máximo de 400 mOsmol/L, visando acelerar o esvaziamento gástrico, conforme recomendado por BROUNS e KOVACS (1997), a quantidade de sacarose adicionada nos processos posteriores foi reduzida para 5%.

#### Desempenho do processo

O fluxo médio do permeado nesse processamento foi de 42 L/hm<sup>2</sup>, inferior ao alcançado nos ensaios para microfiltração da bebida, de 54 L/hm<sup>2</sup> (item 4.1.3). O comportamento da curva apresentou o modelo clássico, com declínio acentuado e posterior estabilização (CHERYAN, 1998). A Figura 4.5 apresenta o comportamento do fluxo de permeado neste processo.

Na microfiltração da polpa de maracujá em membranas tubulares poliméricas, tanto PAULA *et al.* (2002) quanto SILVA (2003) relataram fluxos de permeado mais baixos, da ordem de 20 L/hm<sup>2</sup> e 25 L/hm<sup>2</sup>, respectivamente. Estes valores se devem, possivelmente, às especificidades deste fruto. Os autores sugerem a otimização do pré-tratamento enzimático e do processo de microfiltração para obtenção de fluxos mais altos.

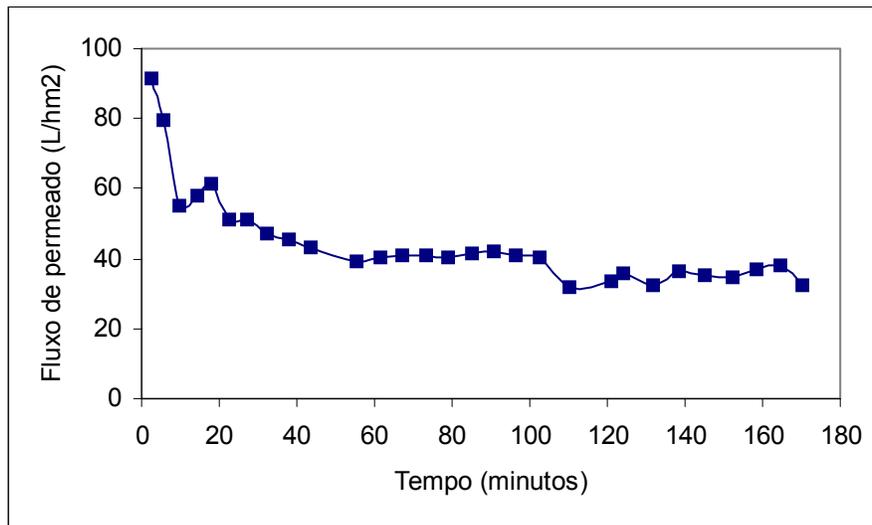


Figura 4.5: Fluxo de permeado em função do tempo na microfiltração da bebida no processo 1.

#### Características do repositar armazenado à temperatura ambiente

O recolhimento do permeado em sistema fechado, cuja proposta era aproximar-se de um sistema asséptico, não se mostrou eficiente para garantir a não-recontaminação do produto permeado (repositor) e, conseqüentemente, o seu armazenamento à temperatura ambiente. Não foram garantidas as mesmas condições dos sistemas assépticos industriais, que conferem esterilidade comercial aos produtos. Nos processos preliminares 1 e 2, assim como nos

experimentos finais A e B, o recolhimento do permeado foi sempre efetuado neste sistema fechado.

As análises microbiológicas da mistura alimentada indicaram contaminação por fungos filamentosos e leveduras, com contagem de  $3,6 \times 10^3$  UFC/mL e de  $4,0 \times 10^2$  UFC/mL de bactérias mesófilas aeróbias. Foi verificada a ausência de *Salmonella* em 25 mL e a contagem de coliformes a 35°C e 45°C foi  $<3$  NMP/mL.

Após a microfiltração, o resultado das análises microbiológicas apontaram para um produto seguro para o consumo, com contagens  $<10$  UFC/mL de fungos filamentosos e leveduras e de bactérias mesófilas. As demais determinações mantiveram-se inalteradas. A legislação brasileira (BRASIL, 2001), para este tipo de produto, exige apenas a determinação de coliformes a 35°C. Os outros microrganismos foram analisados como uma avaliação geral da qualidade do produto, já que o mesmo é um meio de cultura bastante adequado ao crescimento tanto de fungos filamentosos e leveduras quanto de bactérias mesófilas.

As amostras armazenadas à temperatura ambiente, em menos de uma semana, apresentaram turvação e crescimento microbiano, sendo, portanto, descartadas.

GIRARD e FUKUMOTO (2000), baseados em extensa revisão bibliográfica, avaliaram a utilização dos processos de microfiltração e ultrafiltração para sucos de frutas. Estes autores afirmaram que sucos esterilizados a frio poderiam potencialmente ser produzidos, com a condução do processamento e do envase em sistemas assépticos.

Como as condições operacionais da planta-piloto não atendiam a essas especificações, a avaliação da estabilidade do repositores armazenado à temperatura ambiente foi interrompida.

Em momento posterior, em um dos experimentos finais (processo C), para se avaliar a estabilidade do repositores armazenado à temperatura ambiente, foi utilizado conservador e tratamento térmico, acoplado ao sistema de enchimento automático da câmara de fluxo laminar para envase asséptico. A microfiltração da mistura alimentada, neste processo, objetivou somente a sua clarificação, com recolhimento do permeado em sistema aberto, permitindo a obtenção de um produto límpido.

#### Características do repositores armazenado sob refrigeração

As respostas avaliadas para o estudo da estabilidade foram os teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, acidez titulável, turbidez nefelométrica, luminosidade, cor e turbidez, ao longo dos 90 dias do armazenamento sob refrigeração. A partir destes resultados, foram planejados os experimentos finais. Os valores dos parâmetros (médias de triplicata) estão apresentados nas Tabelas 4.10 e 4.11.

Uma característica deste ensaio foi a existência de espaço livre nos frascos de vidro, o que provavelmente acarretou a perda de ácido ascórbico, cerca de 22% durante o armazenamento refrigerado. A diminuição dos teores de ácido ascórbico aos 60 e 75 dias decorreu, possivelmente, de erro na sua determinação, uma vez que aos 90 dias houve retorno a um valor compatível com a redução que vinha acontecendo ao longo do período. PETRUS (2000), avaliando a estabilidade de uma bebida isotônica pasteurizada com uso de calor e acondicionada em garrafa plástica asséptica, relatou uma redução de 50% do teor de vitamina C, em 16

semanas de estocagem a 25°C. Ele atribuiu este resultado à existência do espaço livre na embalagem de PET utilizada em seu estudo, assim como ao oxigênio dissolvido na bebida.

Tabela 4.10. Comportamento da bebida, quanto aos teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez titulável, durante o armazenamento sob refrigeração, no processo 1

Tempo (dias)	Ácido ascórbico (mg/100g)	Sólidos solúveis (°Brix)	pH	Acidez (g ác. málico/100g)
0	338 ± 9	8,6 ± 0,2	3,86 ± 0,00	0,32 ± 0,00
15	317 ± 10	8,1 ± 0,1	3,51 ± 0,04	0,30 ± 0,00
30	312 ± 0	8,6 ± 0,1	3,67 ± 0,02	0,31 ± 0,01
45	274 ± 0	8,3 ± 0,1	3,75 ± 0,00	0,28 ± 0,00
60	111 ± 6	8,4 ± 0,1	3,86 ± 0,05	0,34 ± 0,02
75	180 ± 10	8,4 ± 0,1	3,53 ± 0,00	0,33 ± 0,02
90	262 ± 0	8,4 ± 0,1	3,69 ± 0,01	0,29 ± 0,01

Os sólidos solúveis das amostras permaneceram praticamente sem variação ao final dos 90 dias (2,0%), embora com pequenas oscilações ao longo deste período, como aos 15 dias, quando apresentou uma redução de 5,8%. O pH das amostras apresentou redução de 10,0% aos 15 dias e, ao final do período de estocagem, de aproximadamente 4,0%. A acidez do produto variou em 9,5% ao final do armazenamento, tendo aos 15 dias uma redução de 6,2% e aos 45 dias de 12,5%. Com exceção do teor de ácido ascórbico, pode-se afirmar que as características físico-químicas do produto não apresentaram grandes alterações ao longo do armazenamento. SILVA (1999) relacionou a redução da acidez à

redução de ácido ascórbico e/ou outros ácidos orgânicos em polpas de acerola congeladas ou submetidas à tratamento térmico.

Tabela 4.11. Comportamento da bebida, quanto aos valores de turbidez nefelométrica, luminosidade ( $L_{\text{Hunter}}$ ),  $a_{\text{Hunter}}$ ,  $b_{\text{Hunter}}$  e turbidez durante o armazenamento sob refrigeração, no Processo 1

Tempo (dias)	Turbidez (NTU)	$L_{\text{Hunter}}$	$a_{\text{Hunter}}$	$b_{\text{Hunter}}$	Turbidez
0	1,4 ± 0,15	91,57 ± 0,46	10,38 ± 0,10	8,72 ± 0,02	12,0 ± 0,2
15	9,3 ± 0,15	97,39 ± 0,17	3,40 ± 0,20	4,71 ± 0,10	10,0 ± 0,4
30	nr	95,40 ± 0,27	5,37 ± 0,10	7,62 ± 0,04	10,3 ± 0,4
45	4,2 ± 0,15	99,29 ± 0,10	-0,12 ± 0,07	1,92 ± 0,10	-0,2 ± 0,4
60	1,7 ± 0,12	96,91 ± 0,18	0,29 ± 0,10	10,37 ± 0,20	7,6 ± 0,1
75	3,6 ± 0,15	94,44 ± 0,32	0,35 ± 0,30	18,87 ± 0,20	11,0 ± 0,6
90	1,7 ± 0,1	97,64 ± 0,12	0,12 ± 0,03	9,00 ± 0,03	5,1 ± 0,2

nr – não realizado

Nos valores de turbidez nefelométrica, observou-se um comportamento instável, sem que houvesse qualquer alteração microbiológica ou visual nas amostras.

A luminosidade instrumental oscilou, sendo que o aumento do valor de  $L_{\text{Hunter}}$  ao final dos 90 dias foi de 6%, refletindo um discreto clareamento da bebida. Quanto aos demais parâmetros de cor instrumental,  $a_{\text{Hunter}}$  (intensidade de vermelho) variou bastante ao longo do armazenamento, sendo que aos 90 dias praticamente desapareceu, enquanto que  $b_{\text{Hunter}}$  (intensidade de amarelo) permaneceu na mesma faixa, embora tenha oscilado muito, principalmente aos 45 e 75 dias do estudo. A turbidez, medida no sistema Hunter, apresentou valores baixos, que, entretanto, oscilaram durante todo o período estudado.

A qualidade microbiológica da bebida foi garantida pela microfiltração, pelo recolhimento em sistema fechado, pelo envase em câmara de fluxo laminar e pelo armazenamento sob refrigeração, permanecendo de acordo com a legislação vigente durante todo o período de armazenamento (BRASIL, 2001). O produto obtido no processo 1 manteve-se em boas condições e seguro para o consumo, durante os 90 dias de armazenamento. Os resultados das análises microbiológicas apontaram para a contagem de zero NMP/mL de coliformes a 35°C e 45°C, <10 UFC/mL de mesófilos aeróbios, <10 UFC/mL de fungos filamentosos e leveduras e ausência de *Salmonella* (em 25 mL), em todos os tempos avaliados.

#### 4.1.4.2 - Processo 2

No processo 2, somente a mistura de sucos com parte da água foi microfiltrada. Numa segunda etapa, a mistura clarificada foi adicionada à solução, previamente autoclavada, de sais (0,06% de citrato de sódio e 0,06% de cloreto de sódio), água e de açúcar (5% de sacarose), em uma câmara de fluxo laminar, obtendo-se, então, o repositior. O volume total de água na formulação foi de 2800 mL, sendo equivalente a 67% da bebida. O envase ocorreu no mesmo equipamento, imediatamente após a formulação da bebida. Este produto foi armazenado em frascos de vidro e de PET, com garrafas extras para cada tipo de embalagem, armazenados somente sob refrigeração (4°C).

#### Características físico-químicas

Neste processo foi introduzida mais uma etapa de manipulação do produto, que foi a mistura da solução de sais e açúcar com a mistura clarificada, resultando em sua diluição. Esta diluição fez com que os teores das substâncias que eram

provenientes das frutas fossem menores no repositore do que na mistura clarificada (Tabelas 4.12 e 4.13).

Tabela 4.12. Características da bebida, quanto aos teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez, no processo 2

Parâmetro	Polpa de caju	Polpa de acerola hidrolisada	Mistura alimentada	Mistura clarificada	Repositor
Ác. ascórbico (mg/100g)	124 + 7	1268 ± 12	436 ± 10	342 ± 7	269 ± 13
Sólidos solúveis (°Brix)	8,5 ± 0,0	6,8 ± 0,0	3,4 ± 0,0	2,7 ± 0,0	7,0 ± 0,0
pH	3,85 ± 0,04	3,51 ± 0,02	3,55 ± 0,02	3,48 ± 0,01	3,65 ± 0,01
Acidez (g ác. málico/100g)	0,64 ± 0,01	1,33 ± 0,06	0,50 ± 0,01	0,41 ± 0,00	0,32 ± 0,00

nd – não detectado

Com os sólidos solúveis, sacarose, sódio, cloreto e pH, ocorreu o contrário, ou seja, um maior teor no repositore do que na mistura, devido à adição dos sais e da sacarose.

A perda de 21,5% de ácido ascórbico entre a mistura alimentada e a clarificada foi muito superior à do processo anterior. Estas foram atribuídas ao bombeamento inadequado no sistema de membranas, que provocou excesso de aeração no tanque de alimentação, e, possivelmente, causou a oxidação do ácido ascórbico. Durante o período em que esta bomba foi utilizada, os teores de ácido ascórbico nos produtos clarificados, obtidos nos processos 2 (ensaio preliminar), B (experimento final) e A1 (teste de aceitabilidade), foram menores que os obtidos nos demais processos.

Tabela 4.13. Teores de sais (em mg/100g) e açúcares (em g/100g) da mistura alimentada, clarificada e do repositior, no processo 2

Parâmetro	Mistura alimentada	Mistura clarificada	Repositor
Sódio	7,00	6,40	38,30
Potássio	52,80	56,70	41,10
Cloreto	4,22	4,78	34,43
Glicose	0,94	0,72	0,50
Frutose	0,84	0,68	0,45
Sacarose	nd	nd	4,50

nd – não detectado

Quanto aos sólidos solúveis, foi verificada uma redução de 20,5% entre a mistura alimentada e a clarificada. Apesar disso, a adição de sacarose após a microfiltração garantiu maior controle sobre o teor final de sólidos solúveis no repositior. A acidez titulável apresentou uma redução de 18% e o pH manteve-se estável.

RODRIGUES *et al.* (2002b) não constataram retenção de sólidos solúveis na microfiltração de suco de camu-camu. CAMPOS *et al.* (2002a), na microfiltração de suco de caju, relataram uma perda de 12% dos sólidos solúveis, a mesma concentração relatada por VAILLANT *et al.* (1999) na microfiltração de suco de maracujá. NEVES (1999), microfiltrando polpa de acerola, também verificou uma redução de aproximadamente 13% nos teores de sólidos solúves. Pode-se observar, mais uma vez, que matérias primas e condições operacionais diversas possibilitam resultados distintos na retenção de sólidos solúveis pelas membranas de microfiltração.

A osmolalidade da bebida obtida no processo 2, de 304 mOsmol/L, mostrou que a redução do teor de sacarose atingiu o objetivo esperado. Além disso, não havendo sacarose na mistura alimentada, não houve substrato para ação da invertase, garantindo que os açúcares redutores presentes no repositório fossem apenas os provenientes das frutas. Tanto a menor quantidade de sacarose adicionada quanto a menor concentração de açúcares redutores no repositório foram responsáveis pelo menor valor da osmolalidade da bebida. Porém, por se tratar de produto natural, cujas matérias-primas podem apresentar alterações no teor de açúcares, a osmolalidade dos produtos formulados também pode variar.

#### Características do repositório armazenado sob refrigeração

A vida-de-prateleira foi interrompida aos 30 dias, devido ao crescimento contínuo de microrganismos nas amostras (Tabela 4.14). A contaminação foi causada por problemas ocorridos na sanitização das embalagens, que impediram a finalização do processo em apenas um dia. A formulação do repositório e seu envase em câmara de fluxo laminar foram realizados no dia seguinte à obtenção da mistura clarificada. O sistema fechado de recolhimento do permeado permaneceu sob refrigeração até o momento do uso, prosseguindo-se então às demais etapas.

Após 30 dias de armazenamento refrigerado, o pH e o teor de sólidos solúveis da bebida quase não sofreram alteração. A turbidez diminuiu de 7,2 NTU para 3,2 NTU, enquanto que na acidez titulável observou-se uma redução de 10%. O teor de ácido ascórbico apresentou uma redução de 6% (de 269 mg/100g para 253 mg/100g) no período avaliado.

Tabela 4.14. Análises microbiológicas de bactérias mesófilas aeróbias e de fungos filamentosos e leveduras do produto obtido no processo 2, durante 30 dias de armazenamento sob refrigeração

Tempo (dias)	Contagem padrão em placas (UFC/mL)		Fungos filamentosos e leveduras (UFC/mL)	
	Vidro	PET	Vidro	PET
0	$<10,0 \times 10^1$	$<10,0 \times 10^1$	$1,2 \times 10^2$	$1,2 \times 10^2$
15	$<10,0 \times 10^1$	$10,0 \times 10^1$	$4,3 \times 10^2$	$8,6 \times 10^3$
30	$<10,0 \times 10^1$	$2,1 \times 10^2$	$5,7 \times 10^2$	$8,5 \times 10^2$

As análises microbiológicas do repositores obtido no processo 2, no tempo zero, estiveram de acordo com a legislação vigente (BRASIL, 2001), apesar de ser constatada a presença de  $1,2 \times 10^2$  UFC/mL de fungos filamentosos e leveduras. Esta contagem inicial, ainda que baixa, propiciou o crescimento verificado aos 15 dias, na amostra em embalagem de PET. Os demais parâmetros microbiológicos avaliados não apresentaram alterações, ou seja, coliformes a 35°C e a 45°C, com contagens  $<3$  NMP/mL e ausência de *Salmonella*.

#### 4.1.4.3 - Composição centesimal dos produtos obtidos nos processos 1 e 2

Os teores de nutrientes encontrados nos repositores obtidos nos dois processos descritos estão apresentados na Tabela 4.15. Os teores de lipídeos nas amostras estiveram abaixo dos limites de detecção do método utilizado na determinação de extrato etéreo, motivo pelo qual os mesmos não foram analisados. Os teores de carboidratos estão na faixa recomendada para este tipo de produto. O Colégio Americano de Medicina Esportiva afirmou que, durante exercícios com duração maior que uma hora, os requerimentos de fluidos e carboidratos podem ser

simultaneamente alcançados pela ingestão de 600 a 1200 mL/hora de soluções contendo de 4% a 8% de carboidratos (ARMSTRONG, 2000). Porém, outros autores preferem a faixa de carboidratos entre 6% a 8% nestas bebidas, como um valor ótimo para apoiar um bom desempenho (COLEMAN, 1996; BROUNS e KOVACS, 1997)

Tabela 4.15. Composição centesimal dos repositores obtidos nos Processos 1 e 2

Parâmetro (g/100g)	Processo 1	Processo 2
Umidade	91,91	92,86
Carboidratos	7,72	6,73
Cinzas	0,12	0,16
Proteínas	0,25	0,25
Lipídeos	nd	nd
Valor calórico (kcal/100g)	32	28

nd – não determinado

Como os repositores hidroeletrólíticos não são fonte de proteínas nem de gorduras, os resultados da composição centesimal estão compatíveis com os valores esperados, ou seja, os carboidratos são os macronutrientes de maior expressão. Quanto ao valor calórico, é crescente a preocupação da população em consumir produtos com baixas calorias, mesmo que não sejam produtos dietéticos. O produto obtido no processo 2 aproxima-se mais do valor energético dos repositores líderes de mercado, embora aquele obtido no processo 1 não possa ser considerado um produto muito calórico. É importante considerar que sendo um produto natural e apresentando traços de proteínas, estas contribuíram

com 1 kcal/100g adicionais, o que não se observa nos produtos totalmente artificiais encontrados no mercado.

## **4.2 – EXPERIMENTOS FINAIS**

### **4.2.1 – Avaliação estatística dos processos A, B e C**

Da mesma forma que nos ensaios preliminares, nos ensaios finais de estudo da estabilidade do repositório, as respostas avaliadas estatisticamente foram os teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, acidez titulável, turbidez nefelométrica, luminosidade instrumental, turbidez,  $a_{\text{Hunter}}$  e  $b_{\text{Hunter}}$ , medidos ao longo dos 90 dias de estocagem.

Na análise estatística das respostas avaliadas, não foram encontradas interações significativas para as variáveis sólidos solúveis, pH,  $b_{\text{Hunter}}$  e turbidez nefelométrica. Também não foi detectada diferença significativa entre embalagens e entre tempos, indicando estabilidade do produto com relação a essas respostas, nos processos estudados (Anexos I e II).

A interação processo\*tempo (P\*T) foi significativa para as variáveis ácido ascórbico ( $p = 0,0002$ ), acidez titulável ( $p = 0,0001$ ),  $L_{\text{Hunter}}$  ( $p = 0,0001$ ),  $a_{\text{Hunter}}$  ( $p < 0,0001$ ) e turbidez ( $p = 0,0050$ ) (Anexos III, IV e V), que foram, então, analisadas em cada processo (A, B e C).

No desdobramento dos três processos, a interação embalagem\*tempo (T\*E) não apresentou diferença significativa para nenhum deles (teste de não-aditividade de Tukey), em nenhuma das variáveis citadas acima. Portanto, cada um desses processos pode ser explicado aditivamente como uma soma dos efeitos do tempo (T) e da embalagem (E) (Anexo VI).

Não foram detectadas diferenças significativas entre as embalagens, em nenhuma dessas variáveis, quais sejam, ácido ascórbico, acidez titulável,  $L_{\text{Hunter}}$ ,  $a_{\text{Hunter}}$  e turbidez (Anexo VII). Assim, pôde-se avaliar as embalagens em conjunto nos Processos A, B e C.

A significância do fator tempo (T) para essas variáveis está apresentada em cada um dos processos, indicando estabilidade ou não, com relação ao tempo de armazenamento.

#### **4.2.2 – Processo A**

Como definido a partir dos resultados das determinações de osmolalidade e composição centesimal dos processos preliminares 1 e 2, na formulação de todos os produtos obtidos nos processos finais (A, B e C), foram adicionados 5% de sacarose. Os teores de citrato de sódio e de cloreto de sódio (0,06%) também foram mantidos em todos os processos finais. Como ocorreu no processo preliminar 1, neste processo A toda a formulação foi microfiltrada para obtenção do repositório, mantendo-se a mesma margem de segurança para as possíveis retenções de sólidos solúveis pela membrana. O envase ocorreu em câmara de fluxo laminar, utilizando-se garrafas de vidro e de PET sanificadas previamente.

#### Características físico químicas

As perdas observadas na microfiltração ocorreram nas faixas previstas ou abaixo delas: 5% para o ácido ascórbico, 18% para o sódio, 12% para o cloreto e 10% para o potássio, mantendo o repositório com as concentrações desejadas desses nutrientes. Com os açúcares, observou-se, na mistura alimentada, inversão da sacarose, similar ao verificado no processo preliminar 1. Esta reação ocorreu

também no repositor, embora em menor proporção. Quanto aos sólidos solúveis, a redução foi de 24%, e, na acidez titulável observou-se uma retenção de 18%.

As características físico-químicas do produto obtido pelo processo A, com a microfiltração da bebida já formulada, estão apresentadas nas Tabelas 4.16 e 4.17.

Tabela 4.16. Teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez titulável dos produtos obtidos nas etapas do processo A.

Parâmetro	Polpa de caju	Polpa de acerola hidrolisada	Mistura alimentada	Repositor
Ác. ascórbico (mg/100g)	245 ± 14	1626 ± 46	412 ± 4	391 ± 6
Sólidos solúveis (°Brix)	9,7 ± 0,1	9,4 ± 0,0	10,4 ± 0,0	7,9 ± 0,1
pH	4,09 ± 0,10	3,59 ± 0,02	3,81 ± 0,02	3,82 ± 0,01
Acidez (g ác. málico/100g)	0,47 ± 0,02	1,41 ± 0,00	0,38 ± 0,02	0,31 ± 0,00

A osmolalidade da bebida obtida neste processo foi de 458 mOsmol/L, valor próximo aquele obtido no processo preliminar 1. Apesar da quantidade de sacarose adicionada no processo A ter sido menor (5%), a retenção de açúcares pela membrana também foi menor neste processo, com relação ao processo 1 (7,6% e 26,0%, respectivamente), aumentando a concentração final de açúcares totais no repositor. Uma retenção de 6,8% de açúcares (sacarose, frutose e glicose) foi também relatada por VAILLANT *et al.* (1999), quando microfiltraram suco de maracujá submetido a pré-tratamento enzimático. Desta forma, os teores de açúcares totais dos produtos obtidos pelo processo 1 e pelo processo A foram

semelhantes, ao contrário do que se pretendia, levando a uma osmolalidade maior do que a esperada, apesar da redução do teor de sacarose.

Tabela 4.17. Teores de sais (em mg/100g) e de açúcares (em g/100g) da mistura alimentada e do repositor no processo A

Parâmetro	Mistura alimentada	Repositor
Sódio	52,00	42,60
Potássio	45,65	41,25
Cloreto	41,27	36,16
Glicose	3,42	2,31
Frutose	3,18	2,07
Sacarose	nd	1,72

nd – não detectado

Também neste processo, a possível ação da invertase encontrada na polpa de acerola contribuiu para o aumento do valor osmótico do repositor obtido. A hidrólise parcial da sacarose pode ter sido responsável pelo aumento de açúcares redutores no repositor, com conseqüente aumento da sua osmolalidade.

#### Características do repositor armazenado sob refrigeração

Os resultados mostraram que o repositor obtido no processo A foi estável durante os 90 dias de armazenamento refrigerado, conforme se pode conferir pelos valores p para o fator tempo (Quadro 4.1).

Quadro 4.1. Valores p relativos ao fator tempo (T) no processo A

Parâmetro	Ácido ascórbico	Acidez titulável	L <sub>Hunter</sub>	a <sub>Hunter</sub>	Turbidez
p	0,087	0,1265	0,275	0,097	0,085

Os parâmetros avaliados durante o estudo da estabilidade estão apresentados nas Tabelas 4.18, 4.19, 4.20 e 4.21 e representam as médias de três determinações em uma mesma amostra, para cada tipo de embalagem.

Tabela 4.18. Comportamento da bebida obtida no processo A, quanto aos teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez titulável durante o armazenamento refrigerado, em embalagem de PET

Tempo (dias)	Ácido ascórbico (mg/100g)	Sólidos solúveis (°Brix)	pH	Acidez (g ác. málico/100g)
0	391 ± 6	7,9 ± 0,1	3,82 ± 0,01	0,31 ± 0,00
15	341 ± 8	7,6 ± 0,1	3,73 ± 0,00	0,35 ± 0,01
30	324 ± 11	7,9 ± 0,1	3,76 ± 0,00	0,30 ± 0,01
45	344 ± 5	6,7 ± 0,0	3,78 ± 0,00	0,31 ± 0,00
60	351 ± 3	8,0 ± 0,0	3,81 ± 0,01	0,31 ± 0,01
75	333 ± 8	7,7 ± 0,1	3,76 ± 0,01	0,31 ± 0,01
90	337 ± 9	7,8 ± 0,1	3,79 ± 0,01	0,32 ± 0,01

As perdas de ácido ascórbico oscilaram durante os 90 dias de armazenamento. Considerando-se os valores iniciais e finais, para as amostras embaladas em frascos de PET, a perda foi de 13,8% e para aquelas embaladas em frascos de vidro, a perda foi de 12,5%. Estes dados representam um bom resultado, considerando-se os valores finais dos teores de ácido ascórbico, 337 mg/100g e 342 mg/100g, das amostras acondicionadas em embalagens de PET e de vidro, respectivamente.

CAMPOS *et al.* (2002a) relataram uma perda de ácido ascórbico de aproximadamente 46%, após 60 dias de armazenamento refrigerado de suco de

caju microfiltrado. Apesar desta perda, concluíram que a alta concentração deste nutriente, ao final do armazenamento refrigerado, permitiu que a bebida ainda fosse considerada uma boa fonte de vitamina C. D'ALMEIDA (1996), após 60 dias de armazenamento refrigerado (5°C) de polpa de acerola, verificou uma perda no teor de ácido ascórbico em torno de 18%. Durante o estudo da estabilidade de um repositivo hidroeletrolítico de maracujá, pasteurizado e processado assepticamente, DE MARCHI *et al.* (2003) observaram uma perda de vitamina C de cerca de 13%, após 96 dias de armazenamento refrigerado.

Tabela 4.19. Comportamento da bebida obtida no processo A, quanto aos teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez titulável, durante o armazenamento refrigerado, em embalagem de vidro

Tempo (dias)	Ácido ascórbico (mg/100g)	Sólidos solúveis (°Brix)	pH	Acidez (g ác. málico/100g)
0	391 ± 6	7,9 ± 0,1	3,82 ± 0,01	0,31 ± 0,00
15	343 ± 6	8,0 ± 0,1	3,74 ± 0,02	0,32 ± 0,01
30	338 ± 8	8,0 ± 0,0	3,79 ± 0,01	0,30 ± 0,00
45	348 ± 3	7,9 ± 0,0	3,79 ± 0,01	0,30 ± 0,00
60	344 ± 5	8,0 ± 0,0	3,82 ± 0,01	0,31 ± 0,01
75	334 ± 0	7,7 ± 0,1	3,95 ± 0,00	0,32 ± 0,01
90	342 ± 3	7,7 ± 0,2	3,82 ± 0,01	0,32 ± 0,00

Os teores de sólidos solúveis do repositivo, nas duas embalagens estudadas, se mantiveram estáveis, embora aos 45 dias tenha sido observada uma oscilação na amostra embalada em garrafa de PET. Neste processo não parece ter havido relação entre a redução dos teores de ácido ascórbico e da acidez.

No estudo da estabilidade de um isotônico à base de suco de maçã, LÓPEZ *et al.* (1994) não observaram variações nos valores de sólidos solúveis durante os 90 dias de armazenamento refrigerado. Porém, a acidez aumentou durante esse tempo, em torno de 11%, acompanhada de uma diminuição de aproximadamente 5% no valor do pH.

Tabela 4.20. Comportamento da bebida obtida no processo A, quanto aos valores de turbidez nefelométrica, luminosidade,  $a_{\text{Hunter}}$ ,  $b_{\text{Hunter}}$  e turbidez, durante armazenamento refrigerado, em embalagem de PET

Tempo (dias)	Turbidez (NTU)	$L_{\text{Hunter}}$	$a_{\text{Hunter}}$	$b_{\text{Hunter}}$	Turbidez
0	3,6 ± 0,2	95,25 ± 0,10	2,32 ± 0,01	10,78 ± 0,04	8,1 ± 0,1
15	2,1 ± 0,1	95,73 ± 0,10	3,30 ± 0,20	10,23 ± 0,10	9,7 ± 0,2
30	2,1 ± 0,1	96,47 ± 0,01	2,24 ± 0,10	8,83 ± 0,02	6,8 ± 0,1
45	2,2 ± 0,1	95,57 ± 0,10	3,55 ± 0,10	10,23 ± 0,10	6,4 ± 0,1
60	1,4 ± 0,1	96,17 ± 0,10	2,93 ± 0,10	9,16 ± 0,10	8,6 ± 0,4
75	2,0 ± 0,1	94,88 ± 0,20	4,24 ± 0,10	10,67 ± 0,10	9,2 ± 0,4
90	2,1 ± 0,1	95,08 ± 0,20	3,77 ± 0,10	9,71 ± 0,10	11,5 ± 0,2

A turbidez nefelométrica variou pouco durante o armazenamento, ressaltando-se que o tempo zero foi co-variável no tratamento estatístico. O valor da turbidez, medida no sistema Hunter, mesmo baixo, oscilou nos tempos avaliados, com tendência de aumento. É importante ressaltar, entretanto, que as oscilações determinadas instrumentalmente não foram verificadas visualmente, tendo o repositório se mantido cristalino, sem turvação, durante os 90 dias.

Tabela 4.21. Comportamento da bebida obtida no processo A, quanto aos valores de turbidez nefelométrica, luminosidade,  $a_{\text{Hunter}}$ ,  $b_{\text{Hunter}}$  e turbidez, durante armazenamento refrigerado, em embalagem de vidro

Tempo (dias)	Turbidez (NTU)	$L_{\text{Hunter}}$	$a_{\text{Hunter}}$	$b_{\text{Hunter}}$	Turbidez
0	3,6 ± 0,2	95,25 ± 0,10	2,32 ± 0,01	10,78 ± 0,04	8,1 ± 0,1
15	2,3 ± 0,2	97,11 ± 0,10	2,00 ± 0,05	8,71 ± 0,02	9,9 ± 0,3
30	1,5 ± 0,1	95,91 ± 0,20	2,35 ± 0,10	9,27 ± 0,05	8,6 ± 0,2
45	1,9 ± 0,1	95,37 ± 0,10	3,33 ± 0,10	11,04 ± 0,10	10,1 ± 0,2
60	2,1 ± 0,2	95,27 ± 0,20	3,29 ± 0,04	9,92 ± 0,04	8,6 ± 0,5
75	1,8 ± 0,1	95,66 ± 0,10	3,52 ± 0,10	9,47 ± 0,05	9,9 ± 0,4
90	1,8 ± 0,0	94,60 ± 0,10	4,62 ± 0,10	10,77 ± 0,05	11,7 ± 0,3

Ao estudar a estabilidade de suco de acerola clarificado por microfiltração e armazenado sob refrigeração, MATTA *et al.* (2004b) também observaram uma oscilação na turbidez nefelométrica, porém com valores da ordem de 5,0 NTU, superiores aos do produto obtido neste processo.

Com o suco de maçã clarificado por ultrafiltração, pasteurizado e armazenado à temperatura ambiente por seis meses, PETRUS (1997) percebeu um aumento contínuo da turbidez, embora o valor tenha permanecido inferior a 2,0 NTU. O mesmo comportamento foi observado com o suco de limão, processado e armazenado nas mesmas condições. Ao comparar os resultados obtidos pelas medidas da turbidez nefelométrica e espectrofotométrica, ele constatou que não houve um aumento proporcional entre as duas medidas, durante o período de armazenamento, devido à natureza e o princípio de cada método.

Na avaliação instrumental da cor do repositior, a luminosidade manteve-se estável, com um pequeno aumento da intensidade de vermelho, sem que houvesse escurecimento do produto, e houve manutenção da intensidade de amarelo aos 90 dias, embora com oscilações ao longo do armazenamento.

A relação entre a taxa de degradação da cor da polpa de acerola com a degradação das antocianinas foi verificada por SILVA (1999). Ela citou que a temperatura crítica para iniciar a degradação das antocianinas está na faixa de 12°C a 16°C e que existe uma relação direta entre os valores de antocianinas e ácido ascórbico na polpa estudada.

D'ALMEIDA (1996) verificou uma perda de aproximadamente 37% das antocianinas da polpa de acerola aos 60 dias de armazenamento a 5°C, temperatura na qual as características da polpa foram melhor conservadas. Embora alta, a perda foi significativamente menor que aquelas observadas nas polpas armazenadas à temperatura ambiente. Não houve acompanhamento instrumental da cor, para que se pudesse comparar os resultados.

O repositior obtido no processo A atendeu às especificações da legislação vigente (BRASIL, 2001) e durante o tempo de armazenamento refrigerado o produto manteve-se estável. Aos 90 dias do acompanhamento, tanto nas amostras acondicionadas em garrafas de PET, quanto naquelas em garrafas de vidro, não foram detectados coliformes a 35°C (NMP/mL), coliformes a 45°C (NMP/mL) e *Salmonella* em 25 mL. Para a contagem de bactérias mesófilas aeróbias e fungos filamentosos e leveduras, os valores foram menores que 10 UFC/mL.

O produto obtido, um repositior hidroeletrolítico microfiltrado, ou seja, “pasteurizado a frio”, pode ser comparado aos produtos pasteurizados com uso de calor (sem

conservantes), que não são comercialmente estéreis, sendo, por isso, mantidos sob refrigeração. Um exemplo são os sucos de frutas envasados nas embalagens “Tetra Rex”.

#### **4.2.3 – Processo B**

Neste processo, similar ao processo preliminar 2, os sucos e parte da água foram microfiltrados. O permeado foi recolhido em sistema fechado. A bebida foi formulada em câmara de envase asséptico, adicionada da solução, previamente autoclavada, de sais (0,06% de citrato de sódio e 0,06% de cloreto de sódio), água e sacarose (5%) e envasada imediatamente após a formulação, em garrafas de vidro e de PET.

#### Características físico-químicas

As características físico-químicas do produto obtido no processo B estão apresentadas nas Tabelas 4.22 e 4.23.

A redução de 19,6% no teor de ácido ascórbico durante a microfiltração foi muito superior à verificada no processo A e próxima àquela do processo 2. Esta perda elevada pode também ser atribuída ao mesmo bombeamento, inadequado ao sistema de membranas, por provocar excesso de aeração no tanque de alimentação. CAMPOS *et al.* (2002a) relataram o mesmo problema na microfiltração de polpa de caju, 23% de redução no teor de ácido ascórbico no suco clarificado, causada também pela aeração no tanque de alimentação do sistema de membranas.

A diferença observada na etapa seguinte, nos teores de ácido ascórbico da mistura clarificada e do repositor, decorreu da diluição dos sucos clarificados de

acerola e caju, pelo acréscimo da solução de sais e açúcar, quando da formulação do produto, da mesma forma que para a acidez.

Tabela 4.22. Teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez titulável dos produtos nas etapas do processo B

Parâmetro	Polpa de caju	Polpa de acerola hidrolisada	Mistura alimentada	Mistura clarificada	Repositor
Ác. ascórbico (mg/100g)	130 ± 3	1290 ± 3	439 ± 6	353 ± 5	273 ± 6
Sólidos solúveis (°Brix)	9,9 ± 0,0	6,6 ± 0,0	3,4 ± 0,2	2,9 ± 0,1	6,7 ± 0,1
pH	3,93 ± 0,01	3,58 ± 0,01	3,63 ± 0,01	3,56 ± 0,00	3,69 ± 0,01
Acidez (g ác. málico/100g)	0,70 ± 0,02	1,37 ± 0,02	0,50 ± 0,00	0,44 ± 0,01	0,35 ± 0,02

Quanto aos sólidos solúveis, a redução de 14,7% entre a mistura alimentada e a mistura clarificada não comprometeu a concentração final, já que a formulação foi concluída após a microfiltração das polpas. Resultado similar quanto à redução de sólidos solúveis (12%) foi obtido por VAILLANT *et al.* (1999), na microfiltração de suco de maracujá. Pelo mesmo motivo, as reduções nos teores de sódio (9,4%), potássio (16,7%) e cloreto (13,8%) durante a microfiltração também não comprometeram a concentração final do repositor. A acidez titulável diminuiu cerca de 12,0% e o pH manteve-se estável.

O valor osmótico da bebida obtida no processo B foi de 314 mOsmol/L. Durante o estudo de sua estabilidade, foi determinada também a osmolalidade da bebida aos 45 dias, que foi de 316 mOsmol/L, e aos 90 dias de armazenamento, de 343 mOsmol/L, a fim de verificar se a possível inversão da sacarose em meio ácido,

embora lenta (FORD, 1995), teria alterado a osmolalidade de forma que excedesse ao limite recomendado, de 400 mOsm/L (BROUNS e KOVACS, 1997). A temperatura de refrigeração, responsável por retardar as reações químicas, as atividades enzimáticas e o crescimento de microrganismos, pode ter retardado também o aumento da osmolalidade (9%), não comprometendo os valores finais desejados (BARUFFALDI e OLIVEIRA, 1998; SILVA, 2000).

Tabela 4.23. Teores de sais (em mg/100g) e açúcares (em g/100g) da mistura alimentada, clarificada e do repositivo, no processo B

Parâmetro	Mistura alimentada	Mistura clarificada	Repositor
Sódio	6,40	5,80	32,90
Potássio	67,60	56,30	40,60
Cloreto	5,46	4,65	30,0
Glicose	0,89	0,66	0,56
Frutose	0,78	0,63	0,52
Sacarose	nd *	nd *	3,91

nd – não detectado

#### Características do repositivo armazenado sob refrigeração

As variáveis ácido ascórbico,  $a_{\text{Hunter}}$  e turbidez, medida em sistema Hunter, foram significativas em relação ao fator tempo e as variáveis acidez titulável e  $L_{\text{Hunter}}$  foram não-significativas, portanto, não há evidências de instabilidade para elas. Os valores p relativos ao fator tempo estão apresentados no Quadro 4.2.

Quadro 4.2. Valores p relativos ao fator tempo (T) no processo B

Parâmetro	Ácido ascórbico	Acidez titulável	$L_{\text{Hunter}}$	$a_{\text{Hunter}}$	Turbidez
p	0,016	0,077	0,053	0,008	0,0098

As características da bebida durante o armazenamento sob refrigeração estão apresentadas nas Tabelas 4.24, 4.25, 4.26 e 4.27. Não foi possível analisar a bebida aos 75 dias de estocagem devido à perda das amostras.

Tabela 4.24. Comportamento da bebida obtida no processo B, quanto aos teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez titulável, durante armazenamento refrigerado, em embalagem de PET

Tempo (dias)	Ácido ascórbico (mg/100g)	Sólidos solúveis (°Brix)	pH	Acidez (g ác. málico/100g)
0	273 ± 6	6,7 ± 0,1	3,69 ± 0,01	0,35 ± 0,02
15	276 ± 0	6,2 ± 0,1	3,60 ± 0,0	0,33 ± 0,0
30	270 ± 2	6,5 ± 0,0	3,61 ± 0,01	0,34 ± 0,01
45	257 ± 5	6,5 ± 0,0	3,65 ± 0,01	0,31 ± 0,01
60	274 ± 4	6,5 ± 0,0	3,61 ± 0,01	0,33 ± 0,02
75	nr	nr	nr	nr
90	274 ± 3	6,4 ± 0,0	3,61 ± 0,01	0,37 ± 0,02

Não foram observadas perdas de ácido ascórbico durante o armazenamento refrigerado (4°C) nas amostras acondicionadas em ambas as embalagens. A significância na variação do ácido ascórbico em relação ao fator tempo sugeriu instabilidade em algum momento do período de armazenamento, que ocorreu de fato, aos 45 dias para ambas as embalagens. Como os frascos foram rotulados aleatoriamente, pode ter ocorrido, neste caso, um erro de medida.

MATTA *et al.* (2004b), ao estudarem a vida de prateleira do suco clarificado de acerola armazenado sob refrigeração, durante 90 dias, também não observaram perda de ácido ascórbico nem alteração do teor de sólidos solúveis, pH e acidez. Seus parâmetros de cor, porém, apresentaram instabilidade. Com 141 dias de

armazenamento refrigerado de um repositor hidroeletrólítico à base de maracujá, processado por sistema asséptico, DE MARCHI *et al.* (2003) não verificaram alterações nos teores de sólidos solúveis, acidez e pH.

Tabela 4.25. Comportamento da bebida obtida no processo B, quanto aos teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez titulável, durante armazenamento refrigerado, em embalagem de vidro

Tempo (dias)	Ácido ascórbico (mg/100g)	Sólidos solúveis (°Brix)	pH	Acidez (g ác. málico/100g)
0	273 ± 6	6,7 ± 0,1	3,69 ± 0,01	0,35 ± 0,02
15	268 ± 3	6,4 ± 0,0	3,87 ± 0,01	0,33 ± 0,01
30	275 ± 3	6,5 ± 0,0	3,63 ± 0,01	0,33 ± 0,00
45	258 ± 5	6,5 ± 0,0	3,63 ± 0,01	0,30 ± 0,01
60	276 ± 3	6,5 ± 0,0	3,62 ± 0,0	0,33 ± 0,01
75	nr	nr	nr	nr
90	276 ± 6	6,5 ± 0,0	3,62 ± 0,01	0,33 ± 0,00

Aos 30 dias de armazenamento, houve um aumento do valor da turbidez, medida no sistema Hunter, do repositor obtido neste processo nas duas embalagens. Como nos demais processos finais, o valor da turbidez manteve-se baixo durante o armazenamento e a turvação não pôde ser observada visualmente. A turbidez nefelométrica, variável não testada pelo teste de não-aditividade de Tukey, manteve-se estável, com pequeno aumento de turvação aos 30 dias de armazenamento.

Quanto à luminosidade ( $L_{\text{Hunter}}$ ), o valor p para o fator tempo, muito próximo ao limite de 5%, sugere estabilidade ao longo do período de armazenamento. Aos 30

dias de armazenamento houve um discreto escurecimento, que persistiu até o final dos 90 dias.

Tabela 4.26. Comportamento da bebida obtida no processo B, quanto aos valores de turbidez nefelométrica, luminosidade,  $a_{\text{Hunter}}$ ,  $b_{\text{Hunter}}$  e turbidez durante armazenamento refrigerado, em embalagem de PET

Tempo (dias)	Turbidez (NTU)	$L_{\text{Hunter}}$	$a_{\text{Hunter}}$	$b_{\text{Hunter}}$	Turbidez
0	1,8 ± 0,2	97,06 ± 0,30	1,96 ± 0,20	6,71 ± 0,10	6,2 ± 0,2
15	1,7 ± 0,2	97,12 ± 0,10	2,36 ± 0,10	5,63 ± 0,10	10,4 ± 0,4
30	3,5 ± 0,2	93,75 ± 0,10	6,43 ± 0,10	11,50 ± 0,04	14,9 ± 0,1
45	2,5 ± 0,0	96,99 ± 0,10	2,94 ± 0,10	6,91 ± 0,10	8,0 ± 0,2
60	1,8 ± 0,2	94,99 ± 0,20	5,48 ± 0,05	11,10 ± 0,04	11,2 ± 0,0
75	nr	nr	nr	nr	nr
90	1,9 ± 0,1	95,79 ± 0,40	4,04 ± 0,10	9,72 ± 0,05	10,3 ± 0,2

nr – não realizado

A intensidade de vermelho ( $a_{\text{Hunter}}$ ) oscilou ao longo dos 90 dias estudados, aumentando ao final do armazenamento, nas amostras acondicionadas em ambas as embalagens. O maior valor foi observado aos 30 dias. Foi verificada variação significativa em relação ao fator tempo, demonstrando a instabilidade desta variável durante o período de armazenamento. É possível que este aumento esteja relacionado com o discreto escurecimento das amostras ao final dos 90 dias. Pelo comportamento dos parâmetros de cor instrumental e turbidez aos 30 dias, pode ter havido algum problema com o manuseio destas amostras.

Tabela 4.27. Comportamento da bebida obtida no processo B, quanto aos valores de turbidez nefelométrica, luminosidade,  $a_{\text{Hunter}}$ ,  $b_{\text{Hunter}}$  e turbidez, durante armazenamento refrigerado, em embalagem de vidro

Tempo (dias)	Turbidez (NTU)	$L_{\text{Hunter}}$	$a_{\text{Hunter}}$	$b_{\text{Hunter}}$	Turbidez
0	1,8 ± 0,2	97,06 ± 0,30	1,96 ± 0,20	6,71 ± 0,10	6,2 ± 0,2
15	1,7 ± 0,2	97,83 ± 0,20	1,91 ± 0,20	4,96 ± 0,10	8,9 ± 0,3
30	4,4 ± 0,3	93,03 ± 0,10	6,99 ± 0,10	12,48 ± 0,04	14,8 ± 0,4
45	2,7 ± 0,2	94,63 ± 0,10	4,80 ± 0,10	11,02 ± 0,01	10,6 ± 0,4
60	2,3 ± 0,2	95,51 ± 0,40	5,09 ± 0,40	9,96 ± 0,10	8,6 ± 0,2
75	nr	nr	nr	nr	nr
90	2,4 ± 0,2	94,50 ± 0,10	5,14 ± 0,10	12,47 ± 0,03	11,4 ± 0,1

nr – não realizado

A intensidade de amarelo ( $b_{\text{Hunter}}$ ) apresentou comportamento semelhante, que, entretanto, não variou significativamente. O produto tornou-se mais amarelo ao final dos 90 dias, sendo que a maior intensidade foi observada também aos 30 dias de armazenamento.

Avaliando a intensidade da cor vermelha ( $a_{\text{Hunter}}$ ) em polpas congeladas de acerola não submetidas a tratamento térmico, SILVA (1999) observou uma redução de aproximadamente 67%, enquanto que para a cor amarela ( $b_{\text{Hunter}}$ ) houve um aumento de 5%, após 180 dias de armazenamento, constatando que para preservar a cor das polpas de acerola, nas condições estudadas em seu experimento, as mesmas não deveriam ser armazenadas por um período superior a cinco meses.

Não foi observada relação entre as variações ocorridas com os parâmetros de cor e turbidez, medida pelo sistema Hunter, com as outras variáveis como os teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez, ao final do período de 90 dias de estudo.

As análises microbiológicas do repositório no tempo inicial mostraram que o mesmo encontrava-se adequado ao consumo (BRASIL, 2001). Na mistura clarificada, foi observada uma contagem de bactérias mesófilas de  $1,0 \times 10^1$  UFC/mL e no repositório, este valor foi de  $3,0 \times 10^1$  UFC/mL.

Ao longo dos 90 dias de armazenamento refrigerado, as análises de coliformes a  $35^\circ\text{C}$  e  $45^\circ\text{C}$  apresentaram valores  $<3$  NMP/mL, e as de *Salmonella*, ausência em 25 mL.

As contagens de bactérias mesófilas aeróbias, da ordem de  $10^1$  UFC/mL, foram observadas aos 15 dias de armazenamento na amostra envasada em garrafa de PET e aos 15 e 30 dias na amostra envasada em garrafa de vidro. Aos 30 dias foram observados crescimento de bactérias mesófilas aeróbias ( $1,6 \times 10^3$  UFC/mL) e de fungos filamentosos e leveduras ( $6,7 \times 10^4$  UFC/mL) na amostra acondicionada na garrafa de PET. Possivelmente, esta contaminação ocorreu por falhas no fechamento, ou sanificação deficiente da embalagem. Como nos tempos seguintes não foram observadas alterações microbiológicas nos produtos, pode-se supor que foi um problema específico desta amostra.

Avaliando microbiologicamente um suco microfiltrado de maracujá armazenado sob refrigeração, durante 30 dias, PAULA *et al.* (2002) também verificaram crescimento de bactérias mesófilas e de fungos filamentosos e leveduras na amostra analisada aos 20 dias de armazenamento, tendo concluído que, apesar

deste crescimento, o suco clarificado, aos 30 dias, atendia às exigências da legislação brasileira (BRASIL, 2001). Com o suco microfiltrado de maracujá orgânico, SILVA (2003) observou um crescimento nas contagens de bactérias e de fungos filamentosos e leveduras, da ordem de  $10^2$  a  $10^4$  UFC/mL, a partir dos 14 dias de armazenamento sob refrigeração.

No estudo de vida de prateleira de um isotônico à base de suco de maçã, por 90 dias sob refrigeração, realizado por LÓPEZ *et al.* (1994), foram detectados fungos filamentosos e leveduras aos 45 dias e, somente aos 90 dias, a contagem desses microrganismos chegou a  $2,0 \times 10^2$  UFC/mL. Com relação à legislação então vigente no Chile, seu produto atendeu às exigências quanto à qualidade microbiológica.

#### **4.2.4 – Processo C**

Neste processo, a estabilidade microbiológica do repositivo armazenado à temperatura ambiente foi garantida pelo tratamento térmico e pela adição de conservador. A formulação foi semelhante à do processo B, excetuando-se pela adição do benzoato de sódio à solução de sais e sacarose, quando da formulação do produto. Após o tratamento térmico, em trocador de calor, o repositivo foi envasado, utilizando-se o enchimento automático da câmara de fluxo laminar, seguindo-se o armazenamento, por 90 dias em estufa à temperatura de 25°C.

#### Características físico químicas

A diminuição do teor de vitamina C durante a microfiltração da mistura de sucos e água foi de 2,4% (Tabela 4.28). A utilização do mesmo sistema de bombeamento dos processos 1 e A, mais adequado ao sistema de membranas, causou menor

aeração no tanque de alimentação, evitando a oxidação do ácido ascórbico. A adoção de um novo procedimento de rinsagem da membrana, mais eficaz quanto à remoção total do cloro, também contribuiu para este resultado.

Durante o tratamento térmico do repositório, a vitamina C diminuiu 2,2% (Tabela 4.28), mostrando que, embora severas para sucos ácidos, as condições de tratamento utilizadas não causaram prejuízo à qualidade nutricional do produto, possivelmente devido ao curto tempo de retenção. Quando se pode atingir rapidamente a temperatura do processo, a preservação das propriedades químicas, inclusive dos nutrientes, é maior em tratamentos térmicos com temperaturas mais altas e tempos menores, do que em temperaturas mais baixas e tempos mais longos (RYLEY e KAJDA, 1994).

Objetivando maximizar a preservação de ácido ascórbico pela otimização do tratamento térmico, VIEIRA *et al.* (2002) submetem a dois binômios tempo/temperatura um néctar com pH de aproximadamente 3,3 e 18°Brix, composto de 25% de polpa de cupuaçu, 15% de açúcar e 50% de água, e 10% de uma suspensão contendo  $10^5$  de esporos de *Alicyclobacillus acidoterrestris* (microrganismo alvo do tratamento térmico). Os autores pretendiam uma redução de 5D do esporo em questão e a maior retenção possível de ácido ascórbico, tendo concluído que o melhor resultado foi obtido pela esterilização (115°C/8s), a qual preservou 98,5% do ácido ascórbico presente no néctar.

Na pasteurização de repositório hidroeletrólítico natural de maracujá, utilizando o binômio 92°C/4s, em uma planta piloto da *Tetra Pack*, DE MARCHI *et al.* (2003) verificaram uma perda aproximada de 71% da vitamina C em consequência do tratamento térmico. Pasteurizando (85°C/5s) uma bebida isotônica, com envase a

30°C, PETRUS (2000) observou 17% de perda do ácido ascórbico adicionado à sua formulação. Por sua vez, VIESENTAINER *et al.* (1998) relataram uma perda de 16% de ácido ascórbico quando submeteram polpa de acerola à exaustão e pasteurização, na mesma faixa que a obtida por SILVA (1999), de aproximadamente 12%, quando pasteurizou (94°C/45s) e desaerou polpa de acerola embalada em vidro e em lata. Com o produto apenas pasteurizado sem desaeração, a perda ficou em torno de 5%.

O valor de sódio presente no repositon e no repositon tratado termicamente (Tabela 4.29) encontram-se dentro da faixa esperada, de 40 a 60 mg/100g (BROUNS e KOVACS, 1997), assim como os teores de cloreto e de potássio (BRASIL, 1998).

Tabela 4.28. Teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez titulável dos produtos obtidos nas etapas do processo C

Parâmetro	Polpa de caju	Polpa de acerola hidrolisada	Mistura alimentada	Mistura clarificada	Repositor	Repositor esterilizado
Ác. ascórbico (mg/100g)	146 ± 1	1184 ± 10	381 ± 6	372 ± 2	280 ± 6	274 ± 2
Sólidos solúveis (°Brix)	9,0 ± 0,1	7,0 ± 0,0	2,2 ± 0,0	1,9 ± 0,1	6,6 ± 0,0	6,9 ± 0,0
pH	4,02 ± 0,01	3,53 ± 0,01	3,58 ± 0,01	3,50 ± 0,01	3,75 ± 0,01	3,77 ± 0,01
Acidez (g ác. málico/100g)	0,62 ± 0,04	1,42 ± 0,03	0,47 ± 0,01	0,42 ± 0,03	0,32 ± 0,01	0,33 ± 0,01

Tabela 4.29. Teores de sais (em mg/100g) e de açúcares (em g/100g) das misturas alimentada e clarificada, do repositor e do repositor esterilizado, no processo C

Parâmetro	Mistura alimentada	Mistura clarificada	Repositor	Repositor esterilizado
Sódio	6,30	7,26	41,18	42,04
Potássio	63,90	63,44	45,41	49,01
Cloreto	3,80	5,90	36,08	39,20
Glicose	0,56	0,56	0,42	0,41
Frutose	0,76	0,74	0,55	0,55
Sacarose	nd	nd	4,63	4,58

nd – não detectado

Os resultados de cor instrumental e turbidez das amostras do repositor e do repositor tratado termicamente estão apresentados na Tabela 4.30.

Tabela 4.30. Valores de turbidez nefelométrica,  $L_{\text{Hunter}}$ ,  $a_{\text{Hunter}}$ ,  $b_{\text{Hunter}}$  e turbidez, no repositor e no repositor esterilizado, no processo C

Amostra	Turbidez (NTU)	$L_{\text{Hunter}}$	$a_{\text{Hunter}}$	$b_{\text{Hunter}}$	Turbidez
Repositor	2,8	99,76	-0,26	7,33	3,3
Repositor esterilizado	13	97,68	0,67	11,05	6,6

A turbidez nefelométrica da mistura clarificada, 2,1 NTU, encontrou-se no limite de 2,0 NTU indicado por PETRUS (1997), para soluções consideradas límpidas. Após a adição da solução de sacarose e sais a turbidez aumentou para 2,8 NTU. Como esperado, o valor de turbidez aumentou com o tratamento térmico, assim

como a turbidez nefelométrica. Vale ressaltar, entretanto, que estes são valores ainda baixos, demonstrando que a limpidez do produto foi mantida.

Entre o repositório e o repositório esterilizado foi observado um discreto escurecimento, assim como um aumento dos parâmetros de cor. A intensidade de vermelho ( $a_{\text{Hunter}}$ ) apresentou valores negativos no repositório, indicando a presença da cor verde, voltando ao início da escala de cor vermelha após o tratamento térmico. O aumento da intensidade da cor amarela ( $b_{\text{Hunter}}$ ) no produto após o tratamento térmico está de acordo com o comportamento observado por MORI (1996), em sucos de melancia tratados termicamente, os quais ficaram mais claros, menos vermelhos e mais amarelos quando comparados àqueles que não foram submetidos à ação do calor. Avaliando a intensidade da cor vermelha ( $a_{\text{Hunter}}$ ) na polpa de acerola, SILVA (1999) constatou que a pasteurização promoveu uma redução de aproximadamente 65%.

Como já não havia cor vermelha no repositório, não há como comparar com dados da literatura que reportam alteração na cor vermelha em produtos submetidos a tratamentos térmicos (MORI, 1996; SILVA, 1999).

A osmolalidade da bebida obtida no processo C foi de 312 mOsmol/L. No estudo da estabilidade, aos 90 dias verificou-se o valor de 397 mOsmol/L, possivelmente por inversão parcial da sacarose. Porém, esse valor ainda se encontra no limite dos 400 mOsmol/L, que proporciona uma melhor absorção da bebida (BROUNS e KOVACS, 1997). O aumento de 27% com relação ao valor inicial pode estar relacionado com o armazenamento à temperatura de 25°C. FORD (1995) alertou que apesar do amplo uso da sacarose, este açúcar se inverte lentamente nas bebidas ácidas. Ele advertiu que a maior concentração de monossacarídeos, que

resulta dessa inversão, aumenta a osmolalidade da bebida durante o armazenamento.

#### Características do repositivo armazenado a 25°C

As variações nos parâmetros ácido ascórbico,  $a_{\text{Hunter}}$  e  $L_{\text{Hunter}}$  foram significativas em relação ao fator tempo enquanto que a turbidez não foi significativa. Dada a variação extremamente pequena dos valores de acidez ocorrida neste processo, não foi possível determinar a significância do fator tempo, em relação à interação embalagem\*tempo, pois o quadrado médio de T é aproximadamente zero, considerando-se, portanto, o efeito não significativo. Os valores p relativos ao fator tempo estão apresentados no Quadro 4.3.

A variação significativa do teor de ácido ascórbico em relação ao fator tempo sugere instabilidade em algum momento do armazenamento, uma vez que não existe um declínio importante nos valores verificados ao longo do estudo, nas duas embalagens (Tabelas 4.31 e 4.32). Pode ter havido, também neste caso, um erro de medida aos 30 dias do armazenamento, já que ocorreu uma queda brusca do teor da vitamina, com retorno a valores próximos aos iniciais.

Quadro 4.3. Valores p relativos ao fator tempo (T) no processo C

Ácido ascórbico	Acidez titulável	$L_{\text{Hunter}}$	$a_{\text{Hunter}}$	Turbidez
0,0019	nd *	0,001	0,001	0,225

\*nd = não determinado (QM = 0)

Tabela 4.31. Comportamento da bebida obtida no processo C, quanto aos teores ácido ascórbico e sólidos solúveis, pH e acidez titulável, durante armazenamento a 25°C, em embalagem de PET

Tempo (dias)	Ácido ascórbico (mg/100g)	Sólidos solúveis (°Brix)	pH	Acidez (g ác. málico/100g)
0	274 ± 2	6,9 ± 0,0	3,77 ± 0,01	0,33 ± 0,01
15	262 ± 2	7,0 ± 0,1	3,70 ± 0,01	0,34 ± 0,01
30	235 ± 2	7,0 ± 0,0	3,69 ± 0,00	0,35 ± 0,01
45	275 ± 1	7,0 ± 0,1	3,72 ± 0,00	0,42 ± 0,02
60	267 ± 1	7,0 ± 0,0	3,66 ± 0,01	0,32 ± 0,01
75	266 ± 1	7,0 ± 0,0	3,72 ± 0,02	0,33 ± 0,02
90	262 ± 2	7,0 ± 0,0	3,73 ± 0,01	0,36 ± 0,01

Ao final dos 90 dias do estudo, a diminuição do teor de ácido ascórbico foi em torno de 4,0%, para o repositon acondicionado na embalagem de PET, e de 6,6%, para aquele na embalagem de vidro. Ressalte-se que não foram detectadas diferenças significativas entre as embalagens, em nenhuma das variáveis estudadas, que, por isso, foram avaliadas em conjunto nos processos A, B e C.

DIB TAXI (2001), estudando a estabilidade do suco de camu-camu microencapsulado em *spray dryer* (suco em pó), verificou redução de 6,2% no teor de vitamina C após 90 dias de armazenamento a 25°C.

MATTA e CABRAL (2002), ao manter à temperatura ambiente um suco clarificado de acerola, não submetido a tratamento térmico e embalado em garrafas de PET verde e de vidro transparente, não conseguiram obter um produto

microbiologicamente estável. Ainda assim, ao final do período de armazenamento (90 dias), verificaram uma redução nos teores de ácido ascórbico de apenas 7%.

Valores mais altos foram encontrados por SILVA (1999) em amostras de polpa de acerola pasteurizadas (94°C/45s) e armazenadas à temperatura ambiente por 90 dias, com degradação de aproximadamente 11,5% do ácido ascórbico. O tipo de embalagem utilizada, lata e vidro, não teve influência sobre a degradação da vitamina. A acidez total das amostras, ao final de seis meses, apresentou uma redução da ordem de 2,6%, atribuída à degradação do ácido ascórbico e/ou outros ácidos orgânicos presentes na polpa de acerola.

Tabela 4.32. Comportamento da bebida obtida no processo C, quanto aos teores de ácido ascórbico, sólidos solúveis, pH e acidez titulável, durante armazenamento a 25°C, em embalagem de vidro

Tempo (dias)	Ácido ascórbico (mg/100g)	Sólidos solúveis (°Brix)	pH	Acidez (g ác. málico/100g)
0	274 ± 2	6,9 ± 0,0	3,77 ± 0,01	0,33 ± 0,01
15	267 ± 1	6,9 ± 0,1	3,71 ± 0,00	0,34 ± 0,01
30	243 ± 2	7,0 ± 0,1	3,69 ± 0,01	0,35 ± 0,00
45	279 ± 1	7,0 ± 0,0	3,74 ± 0,01	0,43 ± 0,01
60	270 ± 1	6,9 ± 0,1	3,70 ± 0,01	0,33 ± 0,01
75	264 ± 1	7,0 ± 0,0	3,76 ± 0,00	0,35 ± 0,01
90	255 ± 1	7,0 ± 0,0	3,76 ± 0,01	0,36 ± 0,02

A acidez do repositório obtido neste processo C, variável considerada estável, apresentou, aos 45 dias, um aumento no seu teor em relação aos outros tempos avaliados.

A luminosidade instrumental ( $L_{\text{Hunter}}$ ) (Tabelas 4.33 e 4.34) aos 45 dias de armazenamento, mostrou que houve um escurecimento nas amostras de vidro e de PET, que não se repetiu posteriormente, tendo seus valores iniciais e finais se mantido na mesma faixa. A variação significativa em relação ao fator tempo se deve a esta instabilidade.

A intensidade da cor amarela ( $b_{\text{Hunter}}$ ), não avaliada pelo teste de não-aditividade de Tukey, oscilou no período estudado, com tendência de aumento. Esta variável apresentou valores mais altos neste processo, em comparação com os processos A e B.

Tabela 4.33. Comportamento da bebida obtida no processo C, quanto aos valores de turbidez nefelométrica, luminosidade,  $a_{\text{Hunter}}$ ,  $b_{\text{Hunter}}$  e turbidez, durante armazenamento a 25°C, em embalagem de PET

Tempo (dias)	Turbidez (NTU)	$L_{\text{Hunter}}$	$a_{\text{Hunter}}$	$b_{\text{Hunter}}$	Turbidez
0	13,0 ± 2,7	97,66 ± 0,10	0,67 ± 0,04	11,05 ± 0,11	6,5 ± 0,2
15	8,0 ± 0,8	94,29 ± 0,20	3,11 ± 0,07	15,46 ± 0,06	13,7 ± 0,4
30	6,3 ± 0,2	93,60 ± 0,10	2,92 ± 0,07	16,53 ± 0,03	11,0 ± 0,8
45	8,5 ± 0,1	84,74 ± 0,20	-1,58 ± 0,14	19,25 ± 0,23	10,5 ± 0,1
60	9,7 ± 0,1	93,89 ± 0,20	-0,84 ± 0,05	22,47 ± 0,12	10,8 ± 0,3
75	5,2 ± 0,6	95,73 ± 0,20	0,53 ± 0,06	15,40 ± 0,03	8,3 ± 0,4
90	4,2 ± 0,5	94,74 ± 0,30	-1,42 ± 0,08	22,66 ± 0,10	10,3 ± 0,4

Tabela 4.34. Comportamento da bebida obtida no processo C, quanto aos valores de turbidez nefelométrica, luminosidade,  $a_{\text{Hunter}}$ ,  $b_{\text{Hunter}}$  e turbidez, durante armazenamento a 25°C, em embalagem de vidro

Tempo (dias)	Turbidez (NTU)	$L_{\text{Hunter}}$	$a_{\text{Hunter}}$	$b_{\text{Hunter}}$	Turbidez
0	13,0 ± 2,7	97,66 ± 0,1	0,67 ± 0,04	11,05 ± 0,10	6,5 ± 0,2
15	7,3 ± 0,6	93,31 ± 0,2	3,2 ± 0,03	17,31 ± 0,04	12,1 ± 0,7
30	9,7 ± 0,2	94,40 ± 0,4	1,99 ± 0,10	16,96 ± 0,10	10,3 ± 0,8
45	7,0 ± 0,7	86,05 ± 0,2	-0,92 ± 0,10	13,48 ± 0,10	9,5 ± 0,2
60	9,2 ± 0,3	94,87 ± 0,2	-0,03 ± 0,02	17,47 ± 0,10	8,5 ± 0,3
75	7,5 ± 0,1	94,52 ± 0,1	0,29 ± 0,20	21,96 ± 0,03	10,6 ± 0,1
90	5,8 ± 0,6	94,29 ± 0,2	-1,16 ± 0,10	22,05 ± 0,20	11,3 ± 0,4

A intensidade da cor vermelha ( $a_{\text{Hunter}}$ ) não foi estável, apresentando variação significativa em relação ao fator tempo. Seus valores oscilaram durante os 90 dias de armazenamento, com tendência a diminuir, observando-se, aos 45, 60 e 90 dias, a presença de cor verde.

Segundo SILVA (1999), há uma relação inversamente proporcional entre cor e temperatura. Mas, apesar do efeito drástico da pasteurização no tempo zero, ao final dos seis meses, a diminuição da cor vermelha ( $a_{\text{Hunter}}$ ) dessas polpas foi de aproximadamente 44% e a intensidade da cor amarela apresentou um declínio de cerca de 1,5%, no mesmo período. Esses valores foram menores do que os relatados para as polpas congeladas sem tratamento térmico, cuja curva de maior declínio da cor vermelha ocorreu do tempo zero ao terceiro mês. As polpas pasteurizadas apresentaram diminuição rápida da intensidade de vermelho até o

segundo mês, após esse tempo permaneceram estáveis até o sexto mês de armazenamento à temperatura ambiente.

DIB TAXI (2001) avaliando a estabilidade dos parâmetros de cor de seu produto após 90 dias de armazenamento a 25°C, verificou que os valores de intensidade de vermelho ficaram praticamente constantes quando o encapsulante utilizado foi a matodextrina, porém apresentou uma redução de 15% quando o encapsulante utilizado foi a goma arábica.

Na produção de um licor de acerola, PENHA (2000) estudou a estabilidade das antocianinas (fortemente associada à cor vermelha) e dos carotenos presentes na polpa dessa fruta. Concluiu que a adição de metabissulfito de sódio, na concentração de 200 mg/kg, não preveniu a degradação desses pigmentos, provavelmente estimulada pela incorporação de oxigênio durante o processamento. Após 105 dias de observação, os teores de antocianinas encontravam-se nos mesmos níveis nos licores com e sem adição do conservador.

Para a turbidez nefelométrica do repositório obtido neste processo C, descartando-se o tempo zero (co-variável no modelo de análise de variância), houve uma tendência de diminuição. Foram, entretanto, os valores de turbidez mais elevados quando comparando com os demais processos. Os valores da turbidez, medida pelo sistema Hunter, oscilaram durante o armazenamento, não apresentando um comportamento definido. Ainda assim, as duas variáveis permaneceram com valores baixos, não prejudicando a limpidez da bebida.

No estudo da estabilidade de um suco de papaia, com pH ajustado com ácido cítrico a 3,9 e com adição de 10% de sacarose (p/p), OKOLI e EZENWEKE (1990)

submeteram esse suco ao tratamento térmico de 72°C/6min, a fim de alcançar sua esterilidade comercial. Prepararam 4 tipos de produto: sem adição de conservadores; com adição de 125 mg/100mL de benzoato de sódio; com adição de 50 mg/100mL de metabissulfito de sódio e com a combinação de 25 mg e 60 mg/100mL de metabissulfito e benzoato de sódio, respectivamente. Verificaram que o produto com benzoato de sódio teve sua vida de prateleira, a 30°C, aumentada até 80 semanas, enquanto que os outros conservadores não foram efetivos após 20 semanas de armazenamento. O suco controle, mantido à mesma temperatura, em dez semanas já estava em processo de deterioração. Entretanto, quando os sucos foram conservados sob refrigeração (10°C), todas as amostras adicionadas de conservador permaneceram estáveis por 80 semanas, enquanto que o suco controle deteriorou após 20 semanas. Com base na avaliação sensorial realizada durante a vida de prateleira da bebida, os autores recomendaram o produto com adição de benzoato de sódio, armazenado em temperatura ambiente, que manteve uma alta qualidade e boa aceitação até 40 semanas.

A estabilidade de suco de caju com alto teor de polpa foi estudada por 360 dias à temperatura de 28°C. O suco foi desaerado, homogeneizado, pasteurizado (90°C/60s) e envasado a quente em atmosfera de nitrogênio. Com o objetivo de reduzir o teor de metabissulfito de sódio utilizado pela indústria, três formulações foram testadas: somente com adição de nitrogênio, com adição de nitrogênio e adição de 200 ppm e de 300 ppm do conservador. O tratamento com 300 ppm de metabissulfito foi mais efetivo na preservação da cor. Mesmo assim, em todas as três formulações o escurecimento foi visível a partir do segundo mês. Foram

verificadas reduções nos valores de ácido ascórbico na ordem de 59%, 53% e 57%, respectivamente, para as três formulações testadas (MAIA *et al.*, 2001).

A qualidade microbiológica do repositivo obtido no processo C foi garantida pelo tratamento térmico e pela adição de conservador à bebida (BRASIL, 2001), mantendo-se durante todo o armazenamento a 25°C.

Aos 30 dias do acompanhamento da vida de prateleira do repositivo, a amostra embalada em garrafa de vidro apresentou uma contaminação de bactérias mesófilas aeróbias da ordem de  $5,5 \times 10^1$  UFC/mL e de fungos filamentosos e leveduras da ordem de  $5,0 \times 10^1$  UFC/mL. A amostra embalada em garrafa de PET, por sua vez, apresentou uma contaminação por bactérias mesófilas aeróbias de  $1,4 \times 10^2$  UFC/mL e por fungos filamentosos e leveduras de  $1,0 \times 10^2$  UFC/mL. Estes resultados não foram acompanhados de quaisquer alterações físico-químicas, de cor instrumental ou de turbidez, sugerindo, portanto, que pode ter ocorrido algum problema durante a análise.

Com exceção do resultado dos 30 dias, em todos os demais tempos do estudo, tanto para bactérias mesófilas quanto para fungos filamentosos e leveduras, os valores das contagens no repositivo foram menores que 10 UFC/mL, nas duas embalagens. Em nenhum momento foram detectados coliformes a 35°C (NMP/mL), coliformes a 45°C (NMP/mL) ou *Salmonella* em 25 mL.

O envase de um repositivo hidroeletrólítico de maracujá em sistema asséptico, sem adição de conservadores, não garantiu a DE MARCHI *et al.* (2003) a ausência de bactérias e de fungos filamentosos e leveduras. Eles verificaram baixas contagens destes microrganismos nas amostras armazenadas em temperatura ambiente e sob refrigeração, desde o tempo zero até os 141 dias. Os autores

sugeriram um tratamento térmico mais rigoroso daquele aplicado (92°C/4s) ao produto, a fim de estender sua vida de prateleira.

Apesar da pasteurização lenta e da adição de benzoato de sódio e sorbato de potássio, o isotônico de suco de maçã estudado por LÓPEZ *et al.* (1994) apresentou, aos 30 dias de armazenamento à temperatura ambiente, a presença de bactérias mesófilas e de fungos filamentosos e leveduras. Com 90 dias, o crescimento nas amostras armazenadas à temperatura ambiente foi mais alto do que aquele verificado no produto armazenado sob refrigeração ( $2,0 \times 10^2$  UFC/mL).

Segundo ALVARADO e VITERI (1989), antes que ocorram perdas nutricionais, as alterações de sabor, cor e textura podem indicar o fim da estabilidade de um produto. DE MARCHI *et al.* (2003), pelos resultados da avaliação sensorial, atribuíram ao repositivo hidroeletrólítico natural de maracujá armazenado à temperatura ambiente uma vida de prateleira de 15 a 30 dias, e superior a 141 dias, quando armazenado sob refrigeração. LÓPEZ *et al.* (1994) obtiveram maior pontuação na avaliação sensorial para o isotônico de maçã armazenado sob refrigeração, tendo estimado uma vida de prateleira para o mesmo de 165 dias. O atributo que mais se deteriorou com o tempo foi o sabor, apesar da nota alcançada ainda estar dentro do limite aceitável para sua comercialização. Os autores concluíram que o armazenamento refrigerado por 90 dias seria a melhor forma de o produto manter-se em boas condições químicas, microbiológicas e sensoriais.

Nas avaliações sensoriais dos produtos citados acima, as bases das bebidas foram sucos de fruta, ao contrário de PETRUS (2000), que avaliou sensorialmente

a estabilidade de um isotônico artificial sabor laranja, verificando que a bebida apresentou boa aceitação ao longo de 26 semanas de armazenamento a 25°C, não tendo sido observadas variações significativas quanto à aparência e o sabor do produto. CARVALHO *et al.* (1998) avaliaram a estabilidade de três refrigerantes formulados à base de suco clarificado de abacaxi, verificando que aos 15 dias e aos 90 dias de armazenamento à temperatura ambiente não foi observada turbidez ou sedimentação nas bebidas. Através de teste sensorial triangular de diferença não foram observadas diferenças significativas entre os três produtos.

#### 4.2.5. Desempenho dos processos A, B e C

Os comportamentos dos fluxos médios dos permeados em função do tempo nos processos finais (A, B e C) estão apresentados na Figura 4.5.

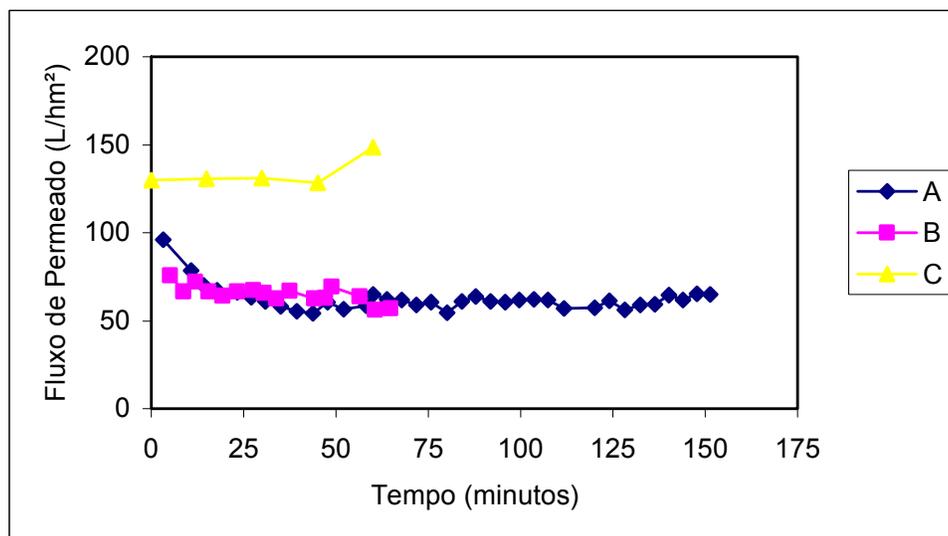


Figura 4.5. Comportamento do fluxo médio do permeado em função do tempo de microfiltração nos processos A, B e C.

Nos dois primeiros processos (A e B), em que o recolhimento do permeado foi feito em sistema fechado, os fluxos médios estabilizados foram de aproximadamente 61 L/hm<sup>2</sup> e 65 L/hm<sup>2</sup>, valores compatíveis com os reportados na literatura para alguns sucos de fruta, como aquele obtido por CARNEIRO (2002) que, microfiltrando polpa de abacaxi previamente tratada com enzimas pectinolíticas e celulolíticas, obteve fluxo médio de permeado em torno de 70 L/hm<sup>2</sup> no patamar estabilizado. Por sua vez, RODRIGUES (2002a), durante a microfiltração do suco de camu-camu submetido à hidrólise enzimática, com recolhimento do permeado em sistema aberto, obteve um fluxo médio de aproximadamente 41 L/hm<sup>2</sup>. Este fluxo foi considerado o melhor, em comparação com os demais processos de microfiltração e ultrafiltração, conduzidos em seu trabalho. Os valores de fluxo de permeado obtidos por VAILLANT *et al* (1999), na microfiltração de suco de maracujá tratado com enzimas pectinases e celulases, ficaram em torno de 40 L/hm<sup>2</sup>. Eles observaram que a matéria prima utilizada, a presença de amido no produto, o tipo de membrana e o sistema utilizados, a temperatura e a velocidade tangencial interferiram no desempenho do processo. O aumento destas duas últimas variáveis, entretanto, ao mesmo tempo em que contribuem para o aumento do fluxo de permeado, favorecem a redução dos teores de ácido ascórbico.

No processo C, foi alcançado um fluxo médio de permeado de 134 L/hm<sup>2</sup>. O aumento de aproximadamente 45%, com relação aos processos A e B, pode ser explicado, em parte, pelo aumento da temperatura na microfiltração, de 36°C, mais alta quando comparada à dos processos A e B, 29°C e 30°C, respectivamente. Esta temperatura pode ter favorecido também a ação das

enzimas que ficam retidas na membrana. Além disso, à medida que o volume do retido diminui durante a microfiltração, a concentração da enzima presente pode aumentar (HART *et al.*, 1994). Assim, a redução da viscosidade da mistura alimentada pode ter influenciado o aumento do fluxo médio de permeado ao final do processo.

#### 4.2.6. Composição centesimal dos repositores: processos A, B e C

A composição centesimal dos produtos obtidos nos três processos finais está apresentada na Tabela 4.35.

Tabela 4.35. Composição centesimal dos repositores obtidos nos processos A, B e C

Parâmetro (g/100g)	Processo A	Processo B	Processo C
Umidade	92,16	93,18	93,30
Carboidratos	7,38	6,38	6,12
Cinzas	0,15	0,19	0,21
Proteínas	0,31	0,25	0,37
Lipídeos	nd	nd	nd
Valor calórico (kcal/100g)	31	26	26

nd – não determinado.

O teor de carboidratos dos repositores encontra-se na faixa recomendada, de 6% a 8% (COLEMAN, 1996; BROUNS e KOVACS, 1997). No processo A, a retenção dos açúcares durante a microfiltração foi menor do que a prevista, havendo, conseqüentemente, maior concentração de carboidratos no repositore, que apresentou o teor de carboidratos mais elevado entre os produtos obtidos nos três

processos. Os produtos obtidos nos processos B e C, em que a adição de sacarose ocorreu após a microfiltração dos sucos, apresentaram valores menores e próximos dos repositores líderes de mercado. Com relação ao valor energético das bebidas, aquelas obtidas pelos processos B e C ficaram na faixa dos repositores líderes de mercado, que fornecem cerca de 24 kcal/100g do produto, embora a obtida no processo A não possa ser considerada com alto teor energético, similar ao ocorrido com os processos preliminares 1 e 2. Também neste caso, os teores de proteínas, embora baixos, contribuíram com 1 a 1,5 kcal/100g do produto, o que não ocorre com os produtos comerciais encontrados no mercado.

#### **4.2.7. Aceitabilidade dos repositores**

Os resultados verificados nos testes de aceitabilidade quanto ao quesito “gostar” foram favoráveis aos repositores em todos os processos estudados, sendo que o produto obtido pelo processo A1 alcançou a aprovação global de 82% dos provadores; o produto obtido pelo processo B1, 87% e o obtido pelo processo C1, 91%. A Figura 4.6 apresenta a distribuição da frequência do quesito “gostar” dos produtos A1, B1 e C1, considerando os níveis da escala hedônica.

Os repositores hidroeletrólitos devem ser consumidos frios, entre 5°C e 15°C, contribuindo para aumentar a ingestão voluntária de líquidos, pois as bebidas frias aumentam a mobilidade gástrica, acelerando o esvaziamento do estômago (WOLINSKY e HICKSON JR, 1996). Esta recomendação foi seguida no presente trabalho, onde os repositores foram oferecidos aos consumidores à uma temperatura em torno de 10°C.

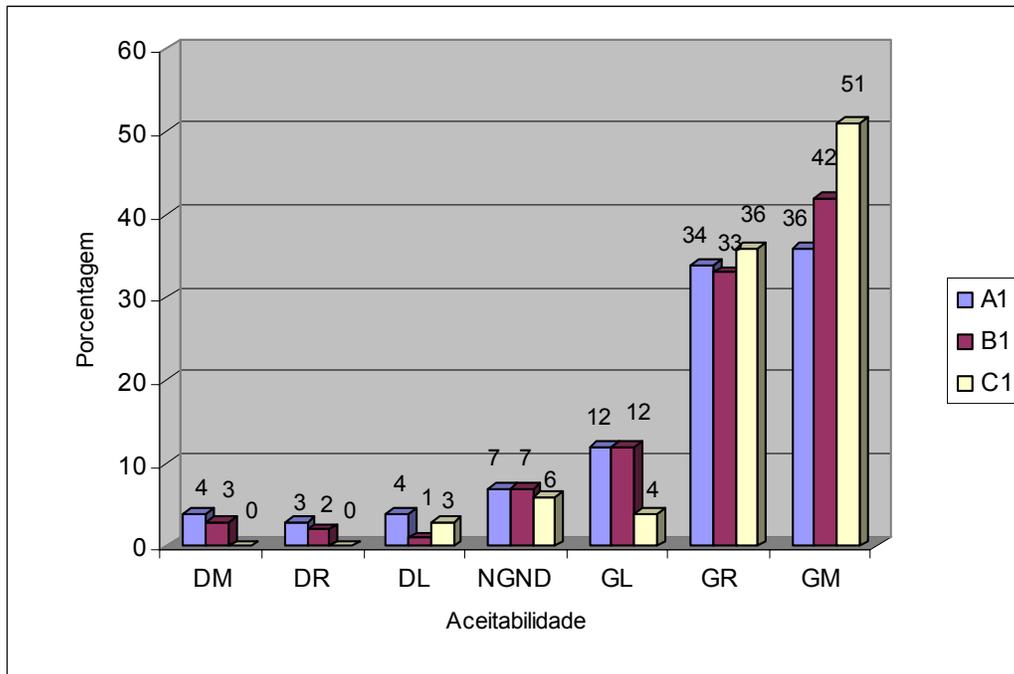


Figura 4.6. Distribuição da freqüência do quesito “gostar”: A1, B1 e C1

DM: desgostei muito; DR: desgostei regularmente; DL: desgostei ligeiramente; NGND: não gostei nem desgostei; GL: gostei ligeiramente; GR: gostei regularmente; GM: gostei muito.

Numa estratégia mercadológica, a fim de ressaltar o diferencial entre os produtos comerciais e os repositores que estavam sendo oferecidos, os provadores foram informados da origem natural e dos valores de ácido ascórbico (280 a 300 mg/100g) dos três repositores testados.

Esclareceu-se também que o valor energético da bebida, em torno de 27 kcal/100g, encontrava-se na mesma faixa dos produtos líderes de mercado, sendo a sacarose a principal fonte de carboidratos da bebida.

MINEHAN *et al.* (2002) sugeriram que o valor calórico dos produtos, conhecido pelos provadores, não foi importante para determinar a ingestão voluntária das bebidas esportivas oferecidas, quando compararam a ingestão de água e de bebidas esportivas oferecidas, quando compararam a ingestão de água e de bebidas esportivas de mesmo sabor, com 6,8% de carboidratos (27 kcal/100g) e

1,0% de carboidratos (4 kcal/100g), durante sessões de treino, com atletas de ambos os sexos. Seus resultados confirmaram também que bebidas com sabor agradável conduzem a um maior consumo voluntário de líquidos, com conseqüente melhor balanço hídrico, em relação ao consumo de água.

Os resultados quanto ao hábito de consumo, nos três grupos de consumidores que avaliaram os repositores obtidos neste trabalho, são significativamente diferentes ( $p < 0,0001$ ). A Figura 4.7 apresenta as distribuições de freqüência do hábito de consumo, para os três produtos. Testando-se a igualdade do padrão de consumo, dois a dois, nos três grupos, verificou-se que não há diferença significativa entre os padrões de consumo dos grupos que provaram os produtos B1 e C1 ( $p = 0,1785$ ) e que há diferença significativa entre os grupos que provaram os produtos A1 e B1 ( $p = 0,0001$ ) e os grupos que provaram A1 e C1 ( $p < 0,0001$ ).

A proporção de consumidores que provou o produto A1 e não consome esse tipo de produto é, aproximadamente, o dobro da proporção observada nos outros grupos. Cerca de 85% dos consumidores que provaram os produtos C1 e B1 consomem, pelo menos “às vezes”, esse tipo de produto, enquanto que 66% dos consumidores que experimentaram o produto A1, o consomem “às vezes” ou mais.

Entretanto, não há associação significativa entre o hábito de consumo nos três grupos de consumidores e o quesito “gostar” ( $p = 0,8023$ ), como mostram os dados apresentados na Tabela 4.36. Entre a intenção de compra dos produtos e o hábito de consumo também não há associação significativa ( $p = 0,3156$ ) (Tabela 4.37).

Concluiu-se, portanto, que nem o quesito “gostar” nem a intenção de compra dependem do hábito de consumo.

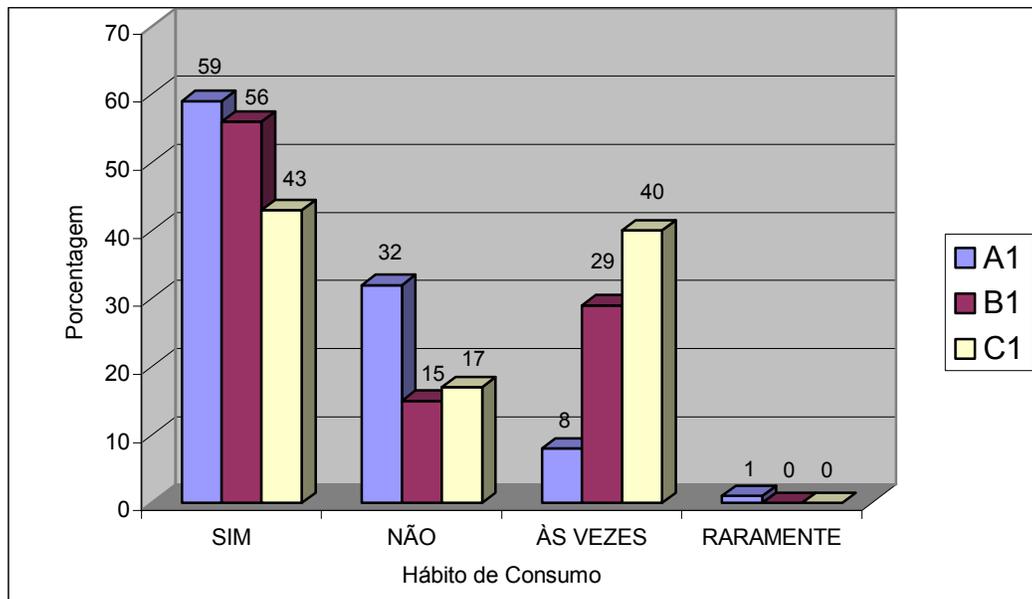


Figura 4.7. Distribuição da freqüência do hábito de consumo dos provadores

Há diferença significativa entre os produtos quanto à intenção de compra ( $p = 0,0480$ ), como apresentado na Figura 4.8. Testando-se a igualdade dos produtos dois a dois, há diferença significativa entre os produtos A1 e C1 ( $p = 0,0102$ ). A intenção de compra do produto C1 (75%) é maior que a do produto A1 (63%). Não há diferença significativa entre os produtos B1 e C1 ( $p = 0,1356$ ) e os produtos A1 e B1 ( $p = 0,5561$ ).

Tabela 4.36. Associação entre o hábito de consumo e o quesito “gostar”

Consome	Gostou							Total
	DM	DG	DL	NGND	GL	GR	GM	
Não	3	2	1	5	6	24	22	63
	4,76	3,17	1,59	7,94	9,52	38,10	34,92	
	42,86	40,00	12,50	25,00	21,43	23,53	17,32	
Raramente	0	0	0	0	0	0	1	1
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,79	
Às vezes	0	2	4	5	6	25	35	77
	0,00	2,60	5,19	6,49	7,79	32,47	45,45	
	0,00	40,00	50,00	25,00	21,43	24,51	27,56	
Sim	4	1	3	10	16	53	69	156
	2,56	0,64	1,92	6,41	10,26	33,97	44,23	
	57,14	20,00	37,50	50,00	57,14	51,96	54,33	
Total	7	5	8	20	28	102	127	297

\*A primeira linha na casela refere-se à frequência, a segunda à porcentagem da linha e a terceira à porcentagem da coluna.

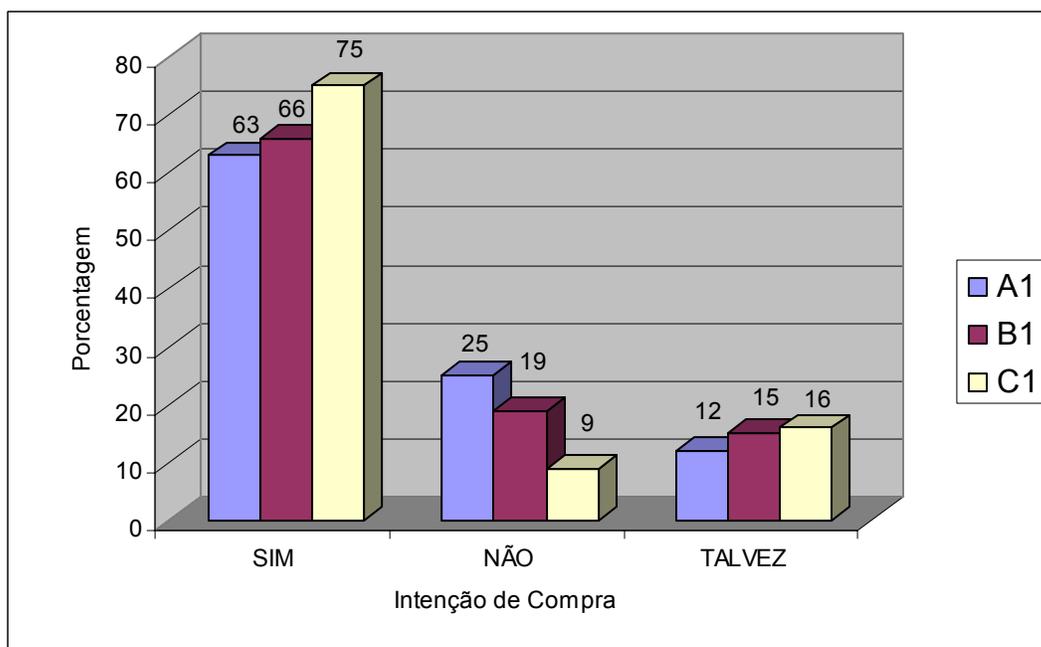


Figura 4.8. Intenção de compra dos produtos A1, B1 e C1

Tabela 4.37. Associação entre a intenção de compra e o hábito de consumo

Consome	Compraria			Total
	Não	Talvez	Sim	
Não	14	12	37	63
	22,22	19,05	58,73	
	26,42	27,91	18,41	
Raramente.	0	0	1	1
	0,00	0,00	100,00	
	0,00	0,00	0,50	
Às vezes	14	14	49	77
	18,18	18,18	63,64	
	26,42	32,56	24,38	
Sim	25	17	114	156
	16,03	10,90	73,08	
	47,17	39,53	56,72	
Total	53	43	201	297

\*A primeira linha na casela refere-se à frequência, a segunda à porcentagem da linha e a terceira à porcentagem da coluna.

O gostar do produto e a intenção de compra estão associados ( $p < 0,0001$ ) (Tabela 4.38). Como se poderia esperar, a intenção de compra é maior entre os consumidores que gostaram do produto.

A acerola utilizada na bebida para os testes de aceitabilidade foi adquirida no momento da realização dos processos para obtenção dos produtos. Pela variação natural na composição da matéria-prima, os valores de osmolalidade foram diferentes daqueles dos repositores obtidos nos processos A, B e C. O valor osmótico da bebida A1 foi menor que o da bebida obtida no processo A, o que pode ser atribuído à diferente taxa de retenção dos açúcares pela membrana ou à

menor presença de açúcares redutores em sua composição, além da já citada variabilidade da matéria prima. A Tabela 4.39 apresenta o valor osmótico dos produtos A1, B1 e C1.

Como se pode constatar, as faixas dos valores de osmolalidade estão próximas ou dentro do limite preconizado pela literatura, que prefere valores menores que 400 mOsmol/L, para uma mais rápida absorção do repositor pelo organismo e para não retardar o esvaziamento gástrico (BROUNS e KOVACS, 1997). O valor mais alto é aquele do produto A1, repetindo o ocorrido com seu similar, obtido pelo processo A.

Tabela 4.38. Associação entre a intenção de compra dos produtos A1, B1 e C1 e o quesito “gostar”

Compraria	Gostou							Total
	DM	DR	DL	NGND	GL	GR	GM	
Não	7	4	7	14	8	12	1	53
	13,21	7,55	13,21	26,42	15,09	22,64	1,89	
	100,00	80,00	87,50	70,00	28,57	11,65	0,78	
Talvez	0	0	1	3	11	24	4	43
	0,00	0,00	2,33	6,98	25,58	55,81	9,30	
	0,00	0,00	12,50	15,00	39,29	23,30	3,10	
Sim	0	1	0	3	9	67	124	204
	0,00	0,49	0,00	1,47	4,41	32,84	60,78	
	0,00	20,00	0,00	15,00	32,14	65,05	96,12	
Total	7	5	8	20	28	103	129	300

\*A primeira linha na casela refere-se à freqüência, a segunda à porcentagem da linha e a terceira à porcentagem da coluna

Tabela 4.39. Valor osmótico dos produtos A1, B1 e C1

Produto	Osmolalidade (mOsmol/L)
A1	405
B1	353
C1	337

## 5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que:

### **Quanto à formulação de um repositr hidroeletrolítico:**

- Foi possível desenvolver um produto com características próximas às dos repositores líderes de mercado.
- Os valores de carboidratos, osmolalidade e sais minerais atenderam às recomendações da literatura e da legislação vigente. O pH manteve-se em torno de 3,8, sendo, portanto, um produto ácido.
- O teor de potássio, superior ao das marcas comerciais, é natural, proveniente das polpas de acerola e de caju.
- A utilização da microfiltração para obtenção dos sucos clarificados de caju e acerola, base da formulação do repositr, garantiu um produto visualmente agradável, límpido, com teores elevados de vitamina C natural, proporcionando um diferencial importante, em comparação com produtos existentes.

### **Quanto aos processos realizados e seus respectivos produtos:**

#### Processo A:

- Os parâmetros do repositr variaram em relação ao previsto, em função da variação na retenção, pela membrana, dos açúcares e sais, o que, entretanto, não impediu que os mesmos estivessem próximos daqueles recomendados pela literatura e dos repositores mais vendidos no mercado.
- A osmolalidade do produto foi alta, em decorrência do teores de açúcares totais e redutores presentes no repositr. O valor total de carboidratos foi o maior entre os produtos obtidos nos três processos, mas, ainda assim, permaneceu na faixa recomendada.

### Processo B:

- A formulação final da bebida após a microfiltração das polpas das frutas permitiu um melhor controle dos teores de sais e açúcares, que ficaram mais próximos dos valores estabelecidos no desenvolvimento do produto.
- O produto obtido foi um isotônico. Os teores dos sais de sódio, apesar de inferiores aos preconizados na literatura, estiveram de acordo com a legislação brasileira. O teor de carboidratos foi similar àqueles das marcas líderes de mercado.

### Processo C

- Neste processo também foi possível um melhor controle da formulação, obtendo-se os melhores resultados em relação ao desenvolvimento do produto. O tratamento térmico, que objetivou o armazenamento do produto à temperatura ambiente, embora severo, pouco afetou o seu teor de ácido ascórbico.
- O produto obtido apresentou teores adequados de sódio, cloreto e açúcares, e seu valor osmótico também ficou na faixa da isotonicidade. O teor de carboidratos também foi semelhante ao dos produtos líderes de mercado.

### **Quanto à estabilidade dos repositores obtidos nos processos A, B e C:**

- Aos 90 dias de avaliação da estabilidade dos produtos, verificou-se que, microbiologicamente, todos atenderam às exigências da legislação brasileira.
- A avaliação dos processos mostrou que não foram encontradas interações significativas entre os fatores para as respostas sólidos solúveis, pH, intensidade de cor amarela ( $b_{\text{Hunter}}$ ) e turbidez nefelométrica no estudo da estabilidade dos produtos, assim como não foi detectada diferença significativa

entre as embalagens e entre os tempos, indicando estabilidade dos parâmetros com relação a estes fatores. A interação processo\*tempo (P\*T) foi significativa para as variáveis ácido ascórbico, acidez titulável,  $L_{\text{Hunter}}$ ,  $a_{\text{Hunter}}$  e turbidez. A interação embalagem\*tempo (T\*E) não apresentou diferença significativa para nenhum dos processos, nas variáveis ácido ascórbico, acidez titulável,  $L_{\text{Hunter}}$ ,  $a_{\text{Hunter}}$  e turbidez.

#### Processo A:

- O produto obtido neste processo foi o mais estável, em todas as variáveis estudadas. Aos 90 dias, o repositior armazenado sob refrigeração apresentou um teor médio de ácido ascórbico de 339 mg/100g. A microfiltração se mostrou adequada como método de conservação do produto.

#### Processo B

- As variações nos teores de ácido ascórbico,  $a_{\text{Hunter}}$  e turbidez do repositior obtido no processo B foram significativas em relação ao tempo, apesar de não terem sido observadas perdas de ácido ascórbico durante o armazenamento refrigerado e as variações no valor de turbidez, ao longo dos 90 dias, não terem sido perceptíveis visualmente. Houve um aumento da intensidade de vermelho, com oscilações ao longo do período de armazenamento, por se tratar de produto natural.

#### Processo C

- As variáveis ácido ascórbico,  $a_{\text{Hunter}}$  e  $L_{\text{Hunter}}$  do repositior obtido neste processo foram significativas em relação ao tempo, em função de alterações isoladas em um dos tempos de análise. Ao final dos 90 dias do armazenamento a 25°C, a redução do teor de ácido ascórbico foi, em média,

de 5,3%. A intensidade da cor vermelha ( $a_{\text{Hunter}}$ ) foi instável, com oscilação de seus valores durante os 90 dias de armazenamento. O produto obtido neste processo foi o que apresentou maior intensidade de cor amarela.

- O tratamento térmico combinado com a adição de agente conservador permitiu a estabilidade do produto a 25°C, durante o período estudado, sendo verificada alteração considerável apenas na cor do produto.

#### **Quanto à aceitabilidade dos produtos A1, B1 e C1:**

- Os resultados dos testes de aceitabilidade e intenção de compra, em campo, indicaram que os produtos foram bem aceitos e que a intenção de compra acompanhou a intensidade do “gostar” dos produtos. Os três produtos tiveram um percentual de aceitação acima de 80%.
- Foram observadas diferenças significativas no quesito “gostar” entre o produto A1 e o produto C1, sendo este último o mais aceito, sugerindo que a adição de conservador não comprometeu o sabor da bebida. Não houve diferença entre C1 e B1, nem entre A1 e B1.
- Os percentuais de intenção de compra foram de 63%, 66% e 75% para os produtos A1, B1 e C1, respectivamente. Quanto à intenção de compra, o produto C1 diferiu de A1 e B1, que não diferiram entre si.
- Não houve associação significativa entre o hábito de consumo e o quesito “gostar”, nem entre o hábito de consumo e a intenção de compra dos produtos.

#### **Sugestões:**

A partir dos resultados obtidos, algumas sugestões podem ser consideradas, de modo a dar continuidade a este estudo:

- Inclusão, como resposta para o estudo da estabilidade, de avaliação sensorial dos produtos durante o período proposto. A exigência para esta avaliação seria a garantia prévia da segurança microbiológica dos produtos testados.
- Realização de processos em que as polpas de frutas sejam microfiltradas independentemente. A aquisição dos sucos já clarificados permitiria sua utilização pelas indústrias de repositores hidroeletrólitos em misturas com diferentes sabores e propostas nutricionais.
- Realização do processo com envase asséptico da bebida clarificada em sistema contínuo à microfiltração. Nestas condições seria possível se obter um produto pasteurizado a frio, com possibilidade de armazenamento à temperatura ambiente.
- Desenvolvimento de novas formulações para os repositores destinados ao armazenamento a 25°C, principalmente quanto ao tipo de carboidratos, visando evitar o aumento da osmolalidade do repositores, durante sua vida-de-prateleira.
- Teste do processo com tratamento térmico, sem adição de agente conservador, a fim de avaliar se a esterilização seria suficiente para manter a estabilidade do produto.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists**. 9.ed. Minnesota, 1995.

ABREU, L.F. **Avaliação de processo de sanificação química de garrafas plásticas para sistemas assépticos**. 2001. 117f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

AGRESTI, A. **Categorical data analysis**. New York: John Wiley & Sons, 1990.

ALVARADO, J.D.; VITERI, N.P. Efecto de la temperature sobre la degradación aeróbica de vitamina C em jugos de frutas citricas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.39, n.4, p.601-611, 1989.

AMAYA-FARFAN, J.; DOMENE, S.M.A.; PADOVANI, R.M. DRI: Síntese comentada das novas propostas sobre recomendações nutricionais para antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.14, n.1, p.71-78, 2001.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMIST **Official methods of analysis**. 14.ed. Arlington, 1984.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMIST. **Official Methods of analysis**. 16.ed. Gaithersburg, Maryland, 1997. v.2.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMIST. **Official Methods of analysis**. 17.ed. Gaithersburg, Maryland, 2000. v.2.

ARANHA, F.Q.; BARROS, Z.F.; MOURA, L.S.A.; GONÇALVES, M.C.R.; BARROS, J. C. METRI, J.C.; SOUZA, M.S. O papel da vitamina C sobre as alterações orgânicas do idoso. **Revista de Nutrição**, v.13, n.2, p.89-97, 2000.

ARMSTRONG, L.E. **Performing in extreme environments**. Champain: Human Kinetics, 2000. 285p.

ASENJO, C.F.; DE GUZMÁN, A.R.F. The high ascorbic acid content of the West Indian cherry. **Science**, n.1103, p.219, 1946.

ASENJO, C.F. Acerola. In: NAGY, S.; SHAW, P. (Ed.). **Tropical and subtropical fruits**: composition, properties and uses. The Avi Publishing Company, INC., 1980. p.341-373.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M.N. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1998. 317p.

BEBIDAS isotônicas prometem agitar o mercado. **Revista Técnica de Bebidas e Alimentos Engarrafador Moderno**, v.8, n.55, p.34-37, 1998.

BELLO, J. Los alimentos funcionales o nutraceuticos. I. Nueva gama de productos en la industria alimentaria. **Alimentaria**, n.25, p.25-29, sept. 1996.

BENASSI, M.T. **Análise dos efeitos dos diferentes parâmetros na estabilidade da vitamina C em vegetais processados**. 1990. 150f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1990.

BERGERON, F.M. Sódio: o nutriente esquecido. **Sports Science Exchange**, n.29, abril/maio/junho 2001. 6p. (Traduzido e adaptado do original em inglês SSE 78, v.13, n.3, 2000. Gatorade Sports Science Institute/Brasil).

BIELECKI, M.C. Vendas de isotônicos explodem em 95. **Alimentos & Tecnologia**, v.10, n.64, p.32-3, 1996.

BLENFORD, D. Food and drink for modern living and sporting activities. **Food Tech Europe**, v.3, n.2, p.18, 20, 22, 1996.

BLISKA, F.M.M.; LEITE, R.S.S.F. Aspectos econômicos e de mercado. In: **ACEROLA no Brasil**: produção e mercado. Vitória da Conquista, BA: UESB, 1995. 160p.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Introdução à química de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Varela, 1992. 223p.

BOX, G.E.P.; HUNTER, W.G.; HUNTER, J.S. **Statistics for experimenters**. New York: John Willey & Sons, 1978.

BRASIL. Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Portaria nº 222 de 24 de março de 1998. Aprova o Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade dos alimentos para praticantes de atividades físicas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 25 mar 1998a.

BRASIL. Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Portaria nº 868 de 3 de novembro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Composto Líquido para Consumo. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 5 nov 1998b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 389 de 5 de agosto de 1999. Dispõe sobre o Regulamento Técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos 16: bebidas – subcategoria 16.2.2 - bebidas não alcoólicas gaseificadas e não gaseificadas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 9 ago 1999. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/389\\_99.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/389_99.htm)>. Acesso em: 10 jan. 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC 12 de 2 de janeiro de 2001. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Disponível em <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm)>. Acesso em: 7 jun. 2002.

BRESLAU, B.R.; MILNES, B.A.; SHORT, J.L.; TUMP, J. Ultrafiltration cuts fruit juice processing costs. **Process Biochemistry**. supplement, August, p.4,7,9, 1984.

BROUNS, F.; KOVAKS, E. Functional drinks for athletes. **Trends in Food Science & Technology**, v.8, n.12, p.414-421, 1997.

BRUIJN, J.; VENEGAS, A.; BORQUEZ, R. Influence of crossflow ultrafiltration on membrane fouling and apple juice quality. **Desalination**, n.148, p.131-136, 2002.

BURKE, L.M. Nutritional needs for exercise in the heat. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, n.128, p.735-748, 2001.

BURKE, L.M.; READ, R.S.D. Dietary supplements in sport. **Sports Medicine**, v.5, n.1, p.43-65, 1993.

CABRAL, L.M.C. Aplicação da tecnologia de membranas na indústria de alimentos. **Engenharia de Alimentos**, n.17, p.27-30, 1998.

CABRAL, L.M.C. **Aplicação dos processos com membranas na indústria de alimentos**. Embrapa: São Paulo, 2000. p.1-53. Seminário Técnico.

CAPANNELLI, G.; BOTTINO, A.; MUNARI, S.; BALLARINO, G.; MIRZAIAN, H.; RISPOLI, G.; LISTER, D. G.; MASCHIO, G. Ultrafiltration of fresh orange and lemon juices. **Food Science and Technology**, v.25, n.6, p.518-522, 1992.

CAMPOS, D.C.P. **Efeito do processo combinado de enzimas e membranas na estabilização do suco de caju clarificado (*Anacardium occidentale* L.)**. 2001. 130f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.

CAMPOS, D.C.P.; SANTOS, A.S.; WOLKOFF, D.B.; MATTA, V. M.; CABRAL, L.M. C.; COURI, S. Cashew apple juice stabilization by microfiltration. **Desalination**, n.148, p.61-65, 2002a.

CAMPOS, D.C.P.; SANTOS, A.S.; WOLKOFF, D.B.; MATTA, V.M., CABRAL, L.M.C.; MODESTA, R.C.D.; COURI, S. Clarificación de jugo de anacardo (*Anacardium occidentale* L.) utilizando tratamiento enzimatico y microfiltración. **Alimentaria**. n.334, p.121-124, 2002b.

CAMPELO, E.C.S.; MARTINS, M.H.B.; CARVALHO, I.T.; PEDROSA, E.M.R. Teores de vitamina C em polpas de acerola (*Malpighia glabra* L.) congeladas. **Boletim CEPPA**, v.16, n.1, p.107-113, 1998.

CANO-MEDRANO, R.; DARNELL, R.L. Sucrose metabolism and fruit growth in parthenocarpic vs. seeded blueberry (*Vaccinium ashei*) fruits. **Physiologia Plantarum**, v.99, n.3, p.439-446, 1997.

CASSANO, A.; DRIOLI, E.; GALAVERNA, G.; MARCHELLI, R.; DI SILVESTRO, G.; CAGNASSO, P. Clarification and concentration of citrus and carrot juices by integrated membrane processes. **Journal of Food Engineering**, n.57, p.153-163, 2003.

CARNEIRO, L.C. **Utilização de microfiltração no processamento de suco de abacaxi (*Ananas comosus* L. Merr cv. *Smooth Cayenne*)**. 2002. 119f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2002.

CARVALHO, L.M.J.; SILVA, C.A.B.; PIERUCCI, A.P.T.R. Clarification of pineapple juice (*Ananas comosus* L. Merryl) by ultrafiltration and microfiltration: physicochemical evaluation of clarified juices, soft drink formulation and sensorial evaluation. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, n.46, p.2185-2189, 1998.

CAVALCANTI, J.J.V. **Anacardium occidentale**: caju. São Paulo: Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica, 1998. Disponível em <<http://www.unicamp.br/nipe/rbma/caju.htm>>. Acesso em: 28 maio 2002.

CHERYAN, M. **Ultrafiltration and microfiltration handbook**. Lancaster: Technomic Publishing Company 1998. 527p.

CHICHESTER, D.F.; TANNER JR, F.W. Antimicrobial food additives. In: FURIA, T.E. **Handbook of food additives**. Cleveland: The Chemical Rubber Co, 1968. cap. 4: p. 137-207.

COLEMAN, E. Aspectos atuais sobre bebidas para esportistas. **Nutrição no Esporte**, n.3, janeiro/fevereiro, 1996. 5p. (Traduzido e adaptado do original em inglês SSE, v.1, n.5, Gatorade Sports Science Institute/Brasil).

COMPENDIUM of methods for the microbiological examination of foods. Washington DC: APHA, 1995.

COSTA, M.J.C.; TERTO, A.L.Q.; SANTOS, L.M.P.; RIVERA, M.A.A.; MOURA, L.S.A. Efeito da suplementação com acerola nos níveis sanguíneos de vitamina C e de hemoglobina em crianças e pré-escolares. **Revista de Nutrição**, v.14. n.1, p.13-20, 2001.

CUPPARI, L. **Guia de nutrição: nutrição clínica no adulto**. São Paulo: Manole, 2002. 406p.

D'ALMEIDA, P.F. **Extração enzimática da polpa de acerola otimizando rendimento, teor de vitamina C e carotenoides**. 1996, 108f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1996.

DARNELL, R.L.; CANO-MEDRANO, R.; KOCH, K.E.; AVERY, M.L. Differences in sucrose metabolism relative to accumulation of bird-deterrent sucrose levels in fruits of wild and domestic *Vaccinium* species. **Physiologia Plantarum**, v.92, n.2, p.336-342, 1994.

DE MARCHI, R.; MONTEIRO, M.; CARDELLO, H.M.A.B. Avaliação da vida-de-prateleira de um isotônico natural de maracujá (*Passiflora edulis Sims. f. flavicarpa Deg.*). **Brazilian Journal of Food Technology**, v.6. n.2, p.291-300, 2003.

DELLA MODESTA, R.C. **Manual de análise sensorial de alimentos e bebidas**. Rio de Janeiro: EMBRAPA – CTAA, 1994.

DIB TAXI, C.M. **Suco de camu-camu (*Myrciaria dubia*) microencapsulado obtido através de secagem por atomização**. 2001. 166f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

ECHEVERRIA, E.; BURNS, J.K. Vacuolar acid hydrolysis as a physiological mechanism for sucrose breakdown. **Plant Physiology**, v.90, n.2, p.530-533, 1989.

ELLIS, M.J. The Methodology of shelf life determination. In: MAN, C.M.D.; JONES, A.A. (Ed.). **Shelf life evaluation of foods**. London: Blackie Academic & Professional, 1996. p.27-39.

EMBRAPA. **Produção de castanha:** panorama mundial. Disponível em: <<http://www.cnpat.embrapa.br/~vitor/Panorama.html>>. Acesso em: 21 fev. 2001.

EMBRAPA (Brasília, DF), Lourdes Maria Corrêa Cabral. **Líquido nutritivo de reposição de eletrólitos e processo de sua obtenção a partir de água de coco.** BR n. PI 000547-3. 22 set. 2000.

ESTATÍSTICA. **Engarrafador Moderno**, v.11, n.103, p.36-7, dez. 2002.

ENERGIA em dobro. **Revista Veja**, Notícia, Economia e Negócios, p.199, 13 dez. 2000.

FARIA, J.A.F. Vida-de-prateleira de alimentos processados assepticamente. In: SEMINÁRIO LATINO AMERICANO: AVANÇOS EM TECNOLOGIA PARA O PROCESSAMENTO E ENVASAMENTO ASSÉPTICO DE ALIMENTOS, 2., 1993, Campinas. **Anais...** Campinas, 1993. p.7-28.

FERRAZ, S. O verão é época dos isotônicos. **Superhiper**, p.84,86,88,90,92, dez. 1998.

FERREIRA, V.L.P. **Princípios e aplicações da colorimetria em alimentos.** Campinas: ITAL, 1981. 86p.

FORD, M.A. The formulation of sports drinks. In: ASHURST, P.R. (Ed.). **Production and Packaging of Non-Carbonated Fruit Juices and Fruit Beverages.** 2.ed. London: Chapman & Hall, 1995. p.300-330.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.

FUJIWARA, T.; SAKAKURA, H.; ITO, H.; HONJO, T. Studies on analysis of sugars in fruits. I. Effect of endogenous invertase on sucrose degradation in analyzing sugars in grape berries. **Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology**, v.46, n.1, p.24-28, 1999.

FUJIMURA, I.; GERALDES, S.M.; ITO, L.S.; MATZUDA, C.K.; OLIVEIRA, E.; POVOA, M.F.; SCLEARUC, E.A.; ZANOTTO, A. Correlação entre

hipercolesterolemia e dieta deficiente em vitamina C. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**, v.46, n.1, p.14-18, 1991.

GATORADE lança a linha Fierce. **Engarrafador Moderno**, Notícias, v.11, n.103, p.52, dez. 2002.

GAVA, A. Processamento asséptico de sucos de frutas. **Alimentação**, n.76, p.32-37, 1985.

GIRARD, B.; FUKUMOTO, L.R. Membrane processing of fruit juices and beverages: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.40, n.2, p.91-157, 2000.

GUYTON, A.C. **Tratado de fisiologia médica**. 5.ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1976.

GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 13.ed. São Paulo: Nobel, 1990. 468p.

GONZÁLEZ-GROSS, M.; GUTIÉRREZ, A; MESA, J.L.; RUIZ-RUIZ. J; CASTILLO, M. J. La nutrición em la práctica deportiva: Adaptación de la pirámide nutricional a las características de la dieta del deportista. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.51, n.4, p.321-331, 2001.

GRAY, J.; MOWER, H.F. The role of simple carbohydrates in the suppression of hydroxyl free radicals in gamma-irradiated papaya juice. **Food Chemistry**, v.41, n.3, p.293-301, 1991.

GRETEBECK, R.J.; GRETEBECK, K.A.; TITTELBACH, T.J. Glycemic index of popular sport drinks and energy foods. **Journal of the American Dietetic Association**, v.102, n.3, p.415-417, 2002.

HARGREAVES, M. Ingestão de carboidratos durante os exercícios: efeitos no metabolismo e desempenho. **Nutrição no esporte**, n.25, abr./jun. 2000. (Traduzido e adaptado do original em inglês SSE 75, v.12, n.4, 1999, Gatorade Sports Science Institute/Brasil).

- HARRISON. **Medicina interna**. 13.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1994.
- HART, M.R.; KENG, C.N.G.; HANNI, P.F.; HUXSOLL, C.C. Effect of enzymes on microfiltration of apricot puree. **Journal of Food Process Engineering**, n.17, p.19-32, 1994.
- HEMILÄ, H. Vitamin C and plasma cholesterol. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.32, n.1, p.33-57, 1992.
- HSIAO, C.C; F.U, R.H.; SUNG, H.Y. A novel bound form of plant invertase in rice suspension cells. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, n.43, p.115-122, 2002.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3.ed. São Paulo, 1985. v.1.
- ISOTÔNICOS: Ambev inicia a produção de 60 milhões L/ano de *Gatorade*. Brasil Alimentos on line, v.43, 21 a 28 dez. 2001. Disponível em: <<http://www.brasilalimentos.com.br>>. Acesso em: 9 maio 2002.
- ISOTÔNICOS: o melhor da nova era. **Nova Embalagem**, São Paulo, n.70, p.3-5, 1996.
- JIAO, B.; CASSANO, A.; DRIOLI, E. Recent advances on membrane processes for the concentration of fruit juices: a review. **Journal of Food Engineering**, n.63, p. 303-324, 2004.
- JUSTI, K.C.; VISENTAINER, J.V.; SOUZA, N.E.; MATSUSHITA, M. Nutritional composition and vit. C stability in stored camu-camu (*Myrciaria dubia*) pulp. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.50, n.4, p.405-407, 2000.
- KOSEOGLU, S.S.; LAWHON, J.T.; LUSAS, E.W. Use of membranes in citrus juice processing. **Food Technology**, v.44, n.12, p.90-97, 1990.
- KAUSE. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 10.ed. São Paulo: Roca, 2002. 1157p.

KUBLI, M.; SCRUTTON, M.J.; SEED, P.T.; O'SULLIVAN, G. An evaluation of isotonic "sport drinks" during labor. **Anesthesia and Analgesia**, v.94, n.2, p.404-8, 2002.

LESHEM, M.; WALD, N. Salt conditions a flavor preference or aversion after exercise depending on NaCl dose and sweat loss. **Appetite**, n.40, p.277-284, 2003.

LEWIS, M.; HEPPELL, N. **Continuous thermal processing of foods: pasteurization and UHT sterilization**. Gaithersbourg, Maryland: Aspen Publishers, 2000. Chapter 5 Pasteurization, p.193-234.

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

LÓPEZ, L.; PENNA, E.W.; BUNGER, A.; FUENZALIDA, R.; GIACCHERO, C.; SANTANA, R. Desarrollo y optimización de un jugo isotônico para desportistas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.44, n.4, p.256-263, 1994.

MAIA, G.A.; MONTEIRO, J.C.S; GUIMARÃES, A.C.L. Estudo da estabilidade físico-química e química do suco de caju com alto teor de polpa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.1, p.43-46, 2001.

MAN, D. **Shelf Life**. Food Industry Briefing series. London: Blackwell Science, 2002. 113p.

MATTA, V.M. **Estudo da utilização dos processos de separação por membranas para obtenção de suco de acerola clarificado e concentrado**. 1999. 180f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.

MATTA, V.M.; CABRAL, L.M.C.; MORETTI, R.H. Clarification of acerola juice by enzymatic treatment and microfiltration. **Alimentaria**, v.4, n.309, p.127-130, 2000a.

MATTA, V.M.; MORETTI, R.H.; CABRAL, L.M.C. Microfiltration and reverse osmosis for clarification and concentration of acerola juice. **Journal of Food Engineering**, n.61, p.477-482, 2004a.

MATTA, V.M.; CABRAL, L.M.C. Suco de acerola clarificado envasado em garrafas de PET e de vidro. **Engarrafador Moderno**, v.11, n.103, p.28-30, 2002.

MATTA, V.M.; CABRAL, L.M.C.; COURI, S.; TERSI, S.; REYNES, M.; DORNIER, M. Microfiltração de suco de caju em membranas cerâmicas e poliméricas. In: CONGRESO IBEROAMERICANO DE INGENIERIA DE ALIMENTOS, 4., 2003, Valparaiso, Chile. **Livro de Resumos...** Valparaiso: Universidad Tecnica Federico Santa Maria/ Instituto Chileno de Ingeniaria para Alimentos, 2003.

MATTA, V.M.; CABRAL, L.M.C.; RODRIGUES, R.B.; MORETTI, R.H.; MENEZES, H.C. Processing of acerola and camu-camu juices by ultrafiltration. In: IFT ANNUAL MEETING TECHNICAL PROGRAMS. **Abstract Book...** Dallas: Institute of Food Technologists, 2000b. p.17-18.

MATTA, V.M.; CABRAL, L.M.C.; SILVA, L.F. Suco de acerola microfiltrado: avaliação da vida de prateleira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.2, 2004b. no prelo.

MANNHEIM, C.H.; HAVKIN, M. Shelf-life of aseptically bottled orange juice. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.5, n.1, p.1-6,1981.

MAUGAHAN, R.J.; LEIPER, J.B. Limitations to fluid replacement during exercise. **Canadian Journal of Applied Physiology**. v.24, n.2, p.173-87, 1999.

MAUGHAN, R.J. Reidratação e recuperação após o exercício. **Nutrição no esporte**, n.12, julho/agosto 1997. 5p. (Sports Science Exchange, Gatorade Sports Science Institute/Brasil).

MEDICAL Encyclopedia: vitamin C. 2003. **Medline Plus**. Disponível em: <<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/002404.htm>>. Acesso em: 25 Mar 2004.

MELLO, J.S.R.; CASTRO, I.M. Método alternativo para determinação de açúcares para HPLC utilizando coluna de troca iônica. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 3., 1999, Campinas. **Resumos...** Campinas: UNICAMP/FEA, 1999. p.48.

MERCADO. Isotônicos. Disponível em: <<http://www.ambev.com.br>>. Acesso em: 31 maio 2004.

MINEHAN, M.R.; RILEY, M.D.; BURKE, L.M. Effect of flavor and awareness of Kilojoule content of drinks on preference and fluid balance in team sports. **International Journal of Sport Nutrition Exercise Metabolism**, v.12, n.1, p.81-92, m. 2002.

MORETTI, R.H. **Contribuição ao estudo do fracionamento do soro de queijo por UF**. 1973. 84f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1973.

MORI, E.E.M. **Suco de melancia [*Citrullus lanatus* (Tumberg) Matsumura and Nakai]**: Processamento, formulação, caracterização física, química, microbiológica e aceitabilidade. 1996. 119f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

MULDER, M. **Basic principles of membrane technology**. [s.l.]: Kluwer Academic Publishers, 1991.

MURRAY, B.; ELCHNER, E.R.; STOFAN, J. Hiponatremia em atletas. **Sports Science Exchange**, n.37, abr./jun. 2003. (Traduzido e adaptado do original em inglês SSE 85, v.15, n.2, 2002. Gatorade Sports Science Institute).

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. **Recommended dietary allowances (RDA)**. 10.ed. Washington: National Academy, 1989.

NETO, L.M. **Acerola a cereja tropical**. São Paulo: Nobel, 1986. 94p.

NEVES, L.C.; CABRAL, L.M.C.; LEITE, S.G.F.; MATTA, V.M. Esterilização de suco de acerola por microfiltração. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E

TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 16., 1998, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SBCTA, 1998. 4p.

NEVES, L.C. **Microfiltração e ultrafiltração de suco de acerola**. 1999. 118f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.

OKOLI, E.C.; EZENWEKE, L.O. Formulation of a bottled pawpaw juice beverage. **International Journal of Food Science and Technology**, n.25, p.704-710, 1990.

OLIVEIRA, S.P. Alimentos funcionais: aspectos relacionados ao consumo. **Food Ingredients**, n.20, p.24-26, 28, 2002.

PAIVA, F.F.A.; GARRUT, A.S.; SILVA NETO, R.M. **Aproveitamento industrial do caju**. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT/SEBRAE/CE, 2000. p.37-44. (Embrapa-CNPAT, 38).

PAULA, B.; MORAES, I.V.; GOMES, F.S.; MATTA, V.M.; CABRAL, L.M.C. Microfiltração de suco de maracujá. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18., 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBCTA/UFRGS, 2002.

PENHA, A.M.; MORETTI, R.H. Effect of enzymatic hydrolysis and ethanol concentration on colour of acerola liqueur. **Alimentaria**, v.4, n.311, p.37-41, 2000.

PENHA, E.M.; MORETTI, R.H.; DELLA MODESTA, R.C.; GONÇALVEZ, E. B. Efeitos dos teores de álcool e açúcar no perfil sensorial de licor de acerola. **Brazilian Journal of Food Technology**, n.6, p.33-42, 2003.

PEREIRA, C.C.; RUFINO, J.M.; HABERT, A.C.; NOBREGA, R.; CABRAL, L.M.C.; BORGES, C.P. Membrane for processing tropical fruit juice. **Desalination**, v.148, p.57-60, 2002.

PETRUS, J.C.C. **Preparação, modificação e caracterização de membranas assimétricas para a clarificação de suco de frutas**. 1997. 139f. Tese

(Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

PETRUS, R.R. **Desenvolvimento de processo e avaliação de estabilidade de bebida Isotônica acondicionada em garrafa plástica asséptica**. 2000. 122f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

PETRUS, R.R.; FARIA, J.A.F. Sistema de embalagem para bebidas isotônicas. **Revista Técnica de Bebidas e Alimentos Engarrafador Moderno**, v.10, n.68, p.40-41, 1999.

PIERGIOVANNI, L. Material de Embalagem e tecnologias de envase. In: BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M.N. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1998. v.3, cap. 10: p.246-258.

PIERUCCI, A.P.T.R. **Elaboração de um produto dietético energético para atletas**. 1999. 188f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Nutrição, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.

POLYDERA, A.C.; STOFOROS, N.G.; TAOUKIS, P.S. Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurized and high pressure processed reconstituted orange juice. **Journal of Food Engineering**, n.60, p.21-29, 2003.

POSITION of the American Dietetic Association, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and athletic performance. **Journal of the American Dietetic Association**, v.100, n.12, p.1543-56, 2000.

RANKIN, J.W. Glycemic index and exercise metabolism. **Sports Science Exchange**, v.10, n.1, 1997. 7p. (Gatorade Sports Science Institute).

RODRIGUES, R.B.; JARDINE, J.G.; CABRAL, L.M.C.; REZENDE, C.M. Obtainement of natural concentrate of the aroma and taste of shitake mushroom (*Lentinula edodes SING*). **Alimentaria**, n.319, p.131-4, 2001.

RODRIGUES, R.B. **Aplicação dos processos de separação por membrana para a produção de suco clarificado e concentrado de camu camu (*Myrciaria dubia*)**. 2002. 146f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

RODRIGUES, R.B.; MENEZES, H.C.; CABRAL, L.M.C.; DORNIER, M.; RIOS, G.M.; REYNES, M. Evaluation of reverse osmosis and osmotic evaporation to concentrate camu-camu juice (*Myrciaria dubia*). **Journal of Food Engineering**, v.63, p.97-102, 2003.

RODRIGUES, R.B.; CABRAL, L.M.C.; MENEZES, H.C. Clarificação e concentração de suco de camu camu (*Myrciaria dubia*) por processos de membranas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18., 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBCTA, 2002. p.1955-1958.

ROING, M.G.; RIVERA, Z.S.; KENNEDY, J.F. L-ascorbic acid: an overview. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, n.44, p.59-72, 1993.

RYAN, M. Sports drinks: Research asks for reevaluation of current recommendations. **Journal of the American Dietetic Association**, v.97, n.10, p.S197-S198, 1997. Supplement 2.

RYLEY, J.; KAJDA, P. Vitamins in thermal processing. **Food Chemistry**, v.49, n.2, p.119-129, 1994.

SÁ, I.S.; CABRAL, L.M.C.; MATTA, V.M. Concentração de suco de abacaxi através dos processos com membranas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.6, p.53-62, 2003.

SANCHES, J.A.; ZAMORANO, J.P.; ALIQUE, R. Polygalacturonase, cellulase and invertase activities during cherimoya fruit ripening. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v.73, n.1, p.87-92, 1998.

SILVA, J.A. **Tópicos de Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Varela, 2000. 227p.

SILVA, M.F.V. **Efeito de diferentes tratamentos e embalagens nas características da polpa e na determinação dos teores de ácido ascórbico e das antocianinas durante o armazenamento.** 1999. 224f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999.

SILVA, T.T.C. **Avaliação da qualidade do suco de maracujá orgânico processado por microfiltração.** 2003. 59f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Tecnologia, Rio de Janeiro, 2003.

SILVA, V.V. **Caju: o produtor pergunta a Embrapa responde.** Brasília: Embrapa, 1988. 220p. (Coleção 500 perguntas 500 respostas).

SINGH, R.P. Principles of shelf life evaluation. In: MAN, C.M.D.; JONES, A.A. (Ed.). **Shelf Life evaluation of foods.** London: Blackie Academic & Professional, 1996. p.3-24.

SLOAN, A.E. What consumers want and don't want on food and beverage labels. **Food Technology**, v.57, n.11, p.26-36, 2003.

SOARES, J.B. **O caju: aspectos tecnológicos.** Fortaleza: Banco Nordeste do Brasil, 1986. 256p.

SOMOGYI, M. Notes on sugar determination. **Journal of Biological Chemistry**, n.195, p.267-272, 1952.

SREBERNICH, S.M. **Caracterização física e química da água do fruto de coco (*cocos nucifera*) variedades gigante e híbrido PB 121, visando o desenvolvimento de uma bebida com características próximas às da água de coco.** 1998. 189f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

TELLES, P.R.S. Industrialização do pseudofruto da castanha. In: CULTURA do cajueiro no nordeste do Brasil. Fortaleza: BNB/Escritório de Estudos Econômicos do NE, 1988. p.357-401.

TODISCO, L.P.; PEÑA, L.; DRIOLI, E., TALLARICO, P. Analysis of the fouling mechanism in microfiltration of orange juice. **Journal of Food Process and Preservation**, n.20, p.453-466, 1996.

US NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES/INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for vitamins C, E, selenium and carotenoids**. Washington, DC: National Academy Press, 2000. 506p.

VAILLANT, F.; MILLÁN, P.; O'BRIEN, G.; DORNIERI, M.; DECLOUX, M.; REYNES, M. Crossflow microfiltration of passion fruit juice after partial enzymatic liquefaction. **Journal of Food Engineering**, n.42, p.215-224, 1999.

VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J.P. **Beverages: technology, chemistry and microbiology**. London: Chapman & Hall, 1994. v.2.

VENDRAMINI, A.L.; TRUGO, L.C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.). **Food Chemistry**, n.71, p.195-198, 2000.

VIEIRA, M.L.B. **Alimentos para praticantes de atividade física**. Apostila do Curso de capacitação para análise de processos de registro de alimentos. Rio de Janeiro, 2000?, Ministério da Saúde/ANVISA. 30p. Módulo I.

VIEIRA, M.C.; TEIXEIRA, A.A.; SILVA, F.M.; GASPAR, N.; SILVA, C.L.M. *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores as a target for cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) nectar thermal processing: Kinetic parameters and experimental methods. **International Journal of Food Microbiology**, n.77, p.71-81, 2002.

VIGLIO, E.B.C.L. Indústria de alimentos: caracterização e tendências para o ano 2000. **Agroanalysis**, v.16, n.9, p.6-12, 1996.

VISENTAINER, J.V.; VIEIRA, O.A.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N.E. Vitamin C Barbados cherry *Malpighia glabra* L. pulp submitted to processing and to different forms of storage. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.48, n.3, p.256-259, 1998.

WHITE JR, T.R; DOUTHIT, G.E. Use of microwave oven and nitric acid-hydrogen peroxide digestion to prepare botanical materials for elemental analysis by inductively coupled argon plasma emission spectroscopy. **Journal of AOAC**, v.68, n.4, p.766-769, 1985.

WOLINSKY, I.; HICKSON JR, J.F. **Nutrição no exercício e no esporte**. 2.ed. São Paulo: Roca, 1996.

WOLKOFF, D.B.; SANTOS, A.S.; MORETTI, R.H.; MODESTA, R.C.D.; MATTA, V.M. Estudo da preferência de misturas de sucos para formulação de repositores hidroeletrolítico. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 4., 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: FEA/UNICAMP, 2001. p.226.

YU, J.; LENCKI, R. W. Effect of enzyme treatments on the fouling behavior of apple juice during microfiltration. **Journal of Food Engineering**, v.63, p.413-423, 2004.

## ANEXO I

Análise de variância ANOVA para o modelo com múltiplos fatores: pH

Efeito	GL	QM	F	p
E	1	0,014400	4,500	0,0600
T	5	0,001373	0,430	0,8180
P*E	2	0,000633	0,188	0,8310
P*T	10	0,003953	1,250	0,3660
E*T	5	0,002213	0,688	0,6440
P*E*T	10	0,003167	-	-

Análise de variância ANOVA para o modelo com múltiplos fatores: sólidos solúveis

Efeito	GL	QM	F	p
E	1	0,090000	2,222	0,1670
T	5	0,039333	0,970	0,4800
P*E	2	0,065833	1,625	0,2450
P*T	10	0,049167	1,215	0,3820
E*T	5	0,042667	1,054	0,4390
P*E*T	10	0,040500	-	-

## ANEXO II

Análise de variância ANOVA para o modelo com múltiplos fatores: turbidez nefelométrica

Efeito	GL	QM	F	p
E	1	1,246944	1,792	0,2100
T	5	2,074278	2,980	0,0670
P*E	2	0,550278	0,790	0,4800
P*T	10	1,945611	2,796	0,0600
E*T	5	0,650278	0,934	0,4990
P*E*T	10	0,695611	-	-

Análise de variância ANOVA para o modelo com múltiplos fatores:  $b_{\text{Hunter}}$

Efeito	GL	QM	F	p
E	1	0,85254	0,165	0,693
T	5	11,21595	2,172	0,139
P*E	2	1,57175	0,304	0,744
P*T	10	5,54663	1,074	0,456
E*T	5	2,79069	0,540	0,743
P*E*T	10	5,16486	-	-

### ANEXO III

Análise de variância ANOVA para o modelo com múltiplos fatores:  $a_{\text{Hunter}}$

Efeito	GL	QM	F	p
E	1	0,133225	0,545	0,47700
T	5	2,174069	8,910	0,00200
P*E	2	0,353925	1,451	0,28000
P*T	10	5,394653	22,111	0,00002
E*T	5	0,473292	1,939	0,17400
P*E*T	10	0,243902	-	-

Análise de variância ANOVA para o modelo com múltiplos fatores: acidez titulável

Efeito	GL	QM	F	p
E	1	0,000136	1,556	0,2410
T	5	0,000478	5,333	0,0120
P*E	2	0,000303	3,333	0,0780
P*T	10	0,001398	15,556	0,0001
E*T	5	0,000069	0,778	0,5870
P*E*T	10	0,000086	-	-

## ANEXO IV

Análise de variância ANOVA para o modelo com múltiplos fatores: L<sub>Hunter</sub>

Efeito	GL	QM	F	p
E	1	0,17640	0,244	0,6320
T	5	9,72713	13,491	0,0004
P*E	2	0,29853	0,415	0,6710
P*T	10	10,81384	14,999	0,0001
E*T	5	0,24293	0,337	0,8790
P*E*T	10	0,72109	-	-

Análise de variância ANOVA para o modelo com múltiplos fatores: turbidez

Efeito	GL	QM	F	p
E	1	0,233611	0,247	0,630
T	5	4,454278	4,693	0,018
P*E	2	2,008611	2,117	0,171
P*T	10	5,446278	5,739	0,005
E*T	5	2,360945	2,488	0,103
P*E*T	10	0,948944	-	-

## ANEXO V

Análise de variância ANOVA para o modelo com múltiplos fatores: ácido ascórbico

Efeito	GL	QM	F	p
E	1	19,0823	1,672	0,2250
T	5	177,1856	15,525	0,0002
P*E	2	1,3108	0,115	0,8930
P*T	10	163,6079	14,334	0,0002
E*T	5	29,3376	2,571	0,0960
P*E*T	10	11,4126	-	-

## ANEXO VI

Níveis de significância do teste de não-aditividade de Tukey para a interação E\*T, processos A, B e C

Valores p relativos a interação embalagem\*tempo no Processo A

Parâmetro	Ácido ascórbico	Acidez titulável	L <sub>Hunter</sub>	a <sub>Hunter</sub>	haze
p	0,1093	0,1952	0,5387	0,5127	0,2368

Valores p relativos a interação embalagem\*tempo no Processo B

Parâmetro	Ácido ascórbico	Acidez titulável	L <sub>Hunter</sub>	a <sub>Hunter</sub>	haze
p	0,9335	0,2308	0,5749	0,8206	0,9377

Valores p relativos a interação embalagem\*tempo no Processo C

Parâmetro	Ácido ascórbico	Acidez titulável	L <sub>Hunter</sub>	a <sub>Hunter</sub>	haze
p	0,6443	0,9655	0,2221	0,2903	0,5158

## ANEXO VII

Níveis de significância do fator E, processos A, B e C

Valores p relativos ao fator embalagem no Processo A

Parâmetro	Ácido ascórbico	Acidez titulável	L <sub>Hunter</sub>	a <sub>Hunter</sub>	<i>haze</i>
p	0,2914	0,363	nd *	0,645	0,118

\*nd – nao determinado (QM = 0)

Valores p relativos ao fator embalagem no Processo B

Parâmetro	Ácido ascórbico	Acidez titulável	L <sub>Hunter</sub>	a <sub>Hunter</sub>	<i>haze</i>
p	0,706	0,102	0,346	0,220	0,50

Valores p relativos ao fator embalagem no Processo C

Parâmetro	Ácido ascórbico	Acidez titulável	L <sub>Hunter</sub>	a <sub>Hunter</sub>	<i>haze</i>
p	0,396	nd *	nd *	nd *	0,596

\* nd – nao determinado (QM = 0)