

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

APLICAÇÃO DA RAZÃO ISOTÓPICA DO CARBONO ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)
PARA DETECÇÃO DE ADULTERAÇÃO EM BEBIDAS A BASE DE
MARACUJÁ - *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.

ANA PAOLA CASTRO DINIZ

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestre em
Agronomia (Energia na Agricultura)

BOTUCATU – SP

NOVEMBRO – 2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

APLICAÇÃO DA RAZÃO ISOTÓPICA DO CARBONO ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)
PARA DETECÇÃO DE ADULTERAÇÃO EM BEBIDAS A BASE DE
MARACUJÁ - *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.

ANA PAOLA CASTRO DINIZ

ORIENTADOR: Waldemar Gastoni Venturini Filho

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestre em
Agronomia (Energia na Agricultura)

BOTUCATU – SP

NOVEMBRO – 2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Diniz, Ana Paola Castro, 1979-
D585a Aplicação da razão isotópica do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) para detecção de adulteração em bebidas a base de maracujá - *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg./ Ana Paola Castro Diniz. - Botucatu : [s.n.], 2010.
ix, 73 f. : il., gráfs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2010
Orientador: Waldemar Gastoni Venturini Filho
Inclui bibliografia.

1. Maracujá - Bebidas. 2. Isótopos estáveis. 3. Suco de frutas. 4. Bebidas - Legislação. 5. Bebidas de maracujá - Controle de qualidade. I. Venturini Filho, Waldemar. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "APLICAÇÃO DA RAZÃO ISOTÓPICA DO CARBONO ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) PARA
DETECÇÃO DE ADULTERAÇÃO EM BEBIDAS A BASE DE
MARACUJÁ – *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg"

ALUNA: ANA PAOLA CASTRO DINIZ

ORIENTADORA: PROF. DR. WALDEMAR GASTONI VENTURINI FILHO

Aprovado pela Comissão Examinadora



PROF. DR. WALDEMAR GASTONI VENTURINI FILHO



PROFA. DRA. LÉA SÍLVIA SANTANA



PROF. DR. RICARDO FIGUEIRA

Data da Realização: 29 de janeiro de 2010.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	III
LISTA DE FIGURAS.....	VII
LISTA DE EQUAÇÕES	VIII
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	IX
1 - RESUMO	1
2 – SUMMARY	2
3 - INTRODUÇÃO E OBJETIVO	3
4 – REVISÃO DE LITERATURA.....	6
4.1 – Isótopos estáveis	6
4.2 - Ciclos fotossintéticos.....	9
4.3 - Diluição isotópica.....	12
4.4 – Fraudes em alimentos e bebidas e o ‘estado da arte’ dos isótopos estáveis de carbono em testes de autenticidade	13
4.5 – Maracujá	14
4.5.1 - Dados de mercado	17
4.6 - Bebidas a base de Maracujá	18
a) Suco	18
b) Polpa.....	21
c) Néctar.....	22
d) Bebidas dietéticas e de baixa caloria	23
4.7 - Valor Energético.....	25
a) Composição Centesimal	25
b) Tabela de Composição de Alimentos.....	26
5 – MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
5.1 - Materiais	27

5.2 – Metodologia	27
1ª Etapa – Obtenção de bebidas padrão e de bebidas adulteradas.	27
2ª Etapa - Análises químicas das matérias-primas, bebidas comerciais e produzidas em laboratório.	29
3ª Etapa – Análise isotópica das matérias-primas, dos sucos tropicais adoçados e dos néctares de maracujá comerciais e produzidos em laboratório.	30
4ª Etapa – Definição do melhor parâmetro de δp para quantificar a fonte C_3 nas bebidas produzidas em laboratório.	32
5ª Etapa – Verificação da interferência dos aditivos alimentares nas mensurações de fonte C_3 nas bebidas a base de maracujá.	32
6ª Etapa – Concepção do limite de legalidade para as bebidas de maracujá	33
7ª Etapa – Determinação da legalidade nas bebidas comerciais	34
8ª Etapa – Avaliações Energéticas	35
6 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
6.1 – Análises das matérias-primas	36
6.1.1 – Análises químicas das polpas de maracujá utilizadas para produção das bebidas em laboratório.	36
6.1.2 – Análises isotópicas das matérias-primas utilizadas para produção das bebidas em laboratório.	36
6.2 – Bebidas produzidas em laboratório	38
6.2.1 - Produção das bebidas	38
6.2.2 – Quantificação teórica da fonte C_3	40
6.2.3 – Análises químicas das bebidas produzidas em laboratório	41
6.2.4 – Análises isotópicas das bebidas produzidas em laboratório	42
6.2.5 - Definição do melhor parâmetro de δp para quantificação prática da fonte C_3	45
6.2.6 – Mensuração de $\delta^{13}C$ em bebidas produzidas com em sem aditivos	47
6.3 – Bebidas comerciais	48
6.3.1 - Análises químicas das bebidas comerciais	48
6.3.2 – Concepção do limite de legalidade para néctares de maracujá	52
6.3.3 - Análise isotópica e determinação da legalidade em bebidas comerciais de maracujá	56
6.3.4 - Análises energéticas	63
7 - CONCLUSÕES	68
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. OCORRÊNCIA DOS ISÓTOPOS ESTÁVEIS DOS ELEMENTOS H, C, N, O E S NA NATUREZA.	6
TABELA 2. RAZÃO ISOTÓPICA ABSOLUTA DOS PADRÕES INTERNACIONAIS.	8
TABELA 3. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E FÍSICO-QUÍMICAS DO MARACUJÁ-AMARELO.	16
TABELA 4. COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO MARACUJÁ-AMARELO.	16
TABELA 5: PADRÕES DE IDENTIDADE E QUALIDADE DO SUCO DE MARACUJÁ.	19
TABELA 6. PADRÕES DE IDENTIDADE E QUALIDADE DO SUCO TROPICAL DE MARACUJÁ.	21
TABELA 7: PADRÕES DE IDENTIDADE E QUALIDADE DA POLPA DE MARACUJÁ.	22
TABELA 8: PADRÕES DE IDENTIDADE E QUALIDADE DO NÉCTAR DE MARACUJÁ.	23
TABELA 9. ADITIVOS UTILIZADOS NA PRODUÇÃO DE BEBIDAS A BASE DE MARACUJÁ	33
TABELA 10. ADITIVOS UTILIZADOS NA PRODUÇÃO DE BEBIDAS <i>LIGHT</i> A BASE DE MARACUJÁ	33
TABELA 11. ANÁLISES QUÍMICAS DAS POLPAS DE MARACUJÁ	36
TABELA 12. ENRIQUECIMENTO ISOTÓPICO RELATIVO ($\Delta^{13}\text{C}$) DA POLPA CONCENTRADA E SUAS FRAÇÕES.	37
TABELA 13. ENRIQUECIMENTO ISOTÓPICO RELATIVO ($\Delta^{13}\text{C}$) DE AÇÚCARES COMERCIAIS.	37
TABELA 14. ENRIQUECIMENTO ISOTÓPICO RELATIVO ($\Delta^{13}\text{C}$) DOS ADITIVOS.	38

TABELA 15. MASSAS UTILIZADAS PARA PRODUÇÃO DOS NÉCTARES E SUCOS TROPICAIS CONVENCIONAIS	39
TABELA 16: MASSAS UTILIZADAS PARA PRODUÇÃO DOS NÉCTARES E SUCOS TROPICAIS <i>LIGHT</i>	39
TABELA 17. PORCENTAGEM TEÓRICA DE FONTE C ₃ DAS BEBIDAS	40
TABELA 18. ANÁLISES QUÍMICAS DOS NÉCTARES E SUCOS TROPICAIS DE MARACUJÁ FABRICADOS EM LABORATÓRIO.	41
TABELA 19. ANÁLISES QUÍMICAS DOS NÉCTARES E SUCOS TROPICAIS <i>LIGHT</i> DE MARACUJÁ FABRICADOS EM LABORATÓRIO.	42
TABELA 20. ENRIQUECIMENTO ISOTÓPICO DAS BEBIDAS PRODUZIDAS EM LABORATÓRIO E DE SUAS FRAÇÕES.	43
TABELA 21. ENRIQUECIMENTO ISOTÓPICO DAS BEBIDAS <i>LIGHT</i> PRODUZIDAS EM LABORATÓRIO E DE SUAS FRAÇÕES	44
TABELA 22. COMPARAÇÃO ENTRE VALORES TEÓRICOS (BALANÇO DE MASSAS) E VALORES PRÁTICOS (MENSURADOS NO ESPECTRÔMETRO DE MASSAS) DE FONTE C ₃ E ESTIMATIVA DE ERRO PARA ESCOLHA DE MELHOR PARÂMETRO PARA ΔP PARA BEBIDAS CONVENCIONAIS.	46
TABELA 23. COMPARAÇÃO ENTRE VALORES TEÓRICOS (BALANÇO DE MASSAS) E VALORES PRÁTICOS (MENSURADOS NO ESPECTRÔMETRO DE MASSAS) DE FONTE C ₃ E ESTIMATIVA DE ERRO PARA ESCOLHA DE MELHOR PARÂMETRO PARA ΔP PARA BEBIDAS <i>LIGHT</i> .	46
TABELA 24. MENSURAÇÃO DE FONTE C ₃ EM NÉCTARES DE MARACUJÁ PRODUZIDOS COM E SEM ADITIVOS	47
TABELA 25. ANÁLISES QUÍMICAS DAS POLPAS CONGELADAS COMERCIAIS	48
TABELA 26. ANÁLISES QUÍMICAS DOS SUCOS INTEGRAIS COMERCIAIS	49
TABELA 27. ANÁLISES QUÍMICAS DOS SUCOS RECONSTITUÍDOS COMERCIAIS	50
TABELA 28. ANÁLISES QUÍMICAS DOS NÉCTARES COMERCIAIS DE MARACUJÁ.	50

TABELA 29. ANÁLISES QUÍMICAS DOS SUCOS TROPICAIS COMERCIAIS DE MARACUJÁ.	51
TABELA 30. BALANÇO DE MASSA UTILIZADO PARA CRIAÇÃO DO LIMITE DE LEGALIDADE DE NÉCTARES DE MARACUJÁ.	52
TABELA 31. BALANÇO DE MASSA UTILIZADO PARA CRIAÇÃO DO LIMITE DE LEGALIDADE DE SUCOS TROPICAIS DE MARACUJÁ.	52
TABELA 32. BALANÇO DE MASSA UTILIZADO PARA CRIAÇÃO DO LIMITE DE LEGALIDADE DE SUCOS RECONSTITUÍDOS DE MARACUJÁ.	53
TABELA 33. BALANÇO DE MASSA UTILIZADO PARA CRIAÇÃO DO LIMITE DE LEGALIDADE DE SUCOS RECONSTITUÍDOS DE MARACUJÁ.	53
TABELA 34. BALANÇO DE MASSA UTILIZADO PARA CRIAÇÃO DO LIMITE DE LEGALIDADE DE SUCOS RECONSTITUÍDOS DE MARACUJÁ.	54
TABELA 35. MASSAS DE SÓLIDOS SOLÚVEIS DOS NÉCTARES, DA POLPA E DO AÇÚCAR E PORCENTAGEM TEÓRICA DE FONTE C_3 .	55
TABELA 36. MASSAS DE SÓLIDOS SOLÚVEIS DOS SUCOS TROPICAIS, DA POLPA E DO AÇÚCAR E PORCENTAGEM TEÓRICA DE FONTE C_3	55
TABELA 37. MASSAS DE SÓLIDOS SOLÚVEIS DOS SUCOS RECONSTITUÍDOS, DA POLPA E DO AÇÚCAR E PORCENTAGEM TEÓRICA DE FONTE C_3	56
TABELA 38. QUANTIFICAÇÃO DE C_3 EM AMOSTRAS DE POLPAS CONGELADAS COMERCIAIS.	56
TABELA 39. QUANTIFICAÇÃO DE C_3 EM AMOSTRAS DE SUCOS INTEGRAIS COMERCIAIS	57
TABELA 40. QUANTIFICAÇÃO DE C_3 EM AMOSTRAS DE SUCOS COMERCIAIS RECONSTITUÍDOS.	58
TABELA 41. QUANTIFICAÇÃO DE C_3 EM AMOSTRAS DE NÉCTARES COMERCIAIS	59
TABELA 42. QUANTIFICAÇÃO DE C_3 EM AMOSTRAS DE SUCOS TROPICAIS COMERCIAIS.	61

TABELA 43. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS BEBIDAS NÃO ALCOÓLICAS A BASE DE MARACUJÁ. 65

TABELA 44. COMPARAÇÃO ENTRE O VALOR ENERGÉTICO FORNECIDO NO RÓTULO DAS BEBIDAS NÃO ALCOÓLICAS A BASE DE MARACUJÁ E OS VALORES ESTIMADOS DO CÁLCULO CENTESIMAL E TABELA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS E BEBIDAS. 66

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama esquemático dos componentes do espectrômetro de massas.....	7
Figura 2 - Régua isotópica com escala de $\delta\%$: amostra em relação ao padrão internacional....	9
Figura 3 - Produção anual de maracujá	17

LISTA DE EQUAÇÕES

1 - Enriquecimento isotópico entre a amostra e o padrão.....	9
2 - Fracionamento do carbono-13 nas plantas do ciclo fotossintético C ₃	11
3 - Fracionamento do carbono-13 nas plantas do ciclo fotossintético C ₄	11
4 - Diluição isotópica simples.....	12
5 - Balanço de massa para produção das bebidas.....	28
6 - °Brix.	29
7 - Acidez titulável.....	29
8 - <i>Ratio</i>	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

$\delta^{13}\text{C}$	Enriquecimento isotópico do Carbono 13 em relação ao padrão internacional (PDB)
$^{\circ}\text{C}$	graus Celsius
m	Massa
g	Gramma
kg	Quilograma
mg	Miligramma
μg	Microgramma
mL	Mililitro
μL	Microlitro
μm	Micrômetro
rpm	rotações por minuto
Kcal	Quilocaloria
KJ	Quilojoule
\bar{x}	Média

1 - RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver metodologia isotópica para detectar possíveis adulterações em bebidas comerciais de maracujá. A análise isotópica foi feita nas matérias-primas (suco concentrado de maracujá e açúcares comerciais) e aditivos (acidulante, antioxidante, e aromatizante), polpa, suco tropical adoçado e néctares. Também foram realizadas análises químicas como Brix, pH, acidez titulável e *ratio* nas matérias-primas e nas bebidas à base de maracujá. Foram fabricados em laboratório produtos conforme os padrões de identidade e qualidade estabelecidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e produtos adulterados, com concentrações de carbono C₃ e C₄ conhecidas, para que a precisão do método fosse avaliada. Foi verificada a influência da presença de aditivos alimentares nas mensurações de $\delta^{13}\text{C}$ das bebidas. Além disto, foram feitos gráficos ($^{\circ}\text{Brix}$ vs. % fonte C₃) para determinar a legalidade das bebidas a base de maracujá encontradas no mercado brasileiro.

Palavras-chave: suco de frutas, fraude, isótopos estáveis, controle de qualidade.

APPLICATION OF THE ISOTOPIC RATIO OF THE CARBON ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) FOR DETECTION OF ADULTERATION IN PASSION FRUIT JUICES *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg. Botucatu, 2009. 90p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: ANA PAOLA CASTRO DINIZ

Adviser: WALDEMAR GASTONI VENTURINI FILHO

2 – SUMMARY

The present work had as objective develops methodology isotopic to detect possible adulterations in commercial beverage of passion fruit. The isotopic analysis was made in the raw materials (passion fruit and commercial sugars) and addictive, pulp, sweetened tropical juice and nectars. Also chemical analyses were accomplished like Brix, pH, acidity titulável and ratio in the raw materials and in the drinks to the passion fruit base. They were manufactured in laboratory products conforms the identity patterns and quality established by the Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply (MAPA) and adulterated products, with concentrations of carbon C_3 and known C_4 , so that the precision of the method was evaluated. The influence of the presence was verified of addictive alimentary in the mensurações of ^{13}C of the drinks. Besides, they were done graphic ($^{\circ}\text{Brix}$ vs. % source C_3) to determine the legality of the drinks the passion fruit base found at the Brazilian market.

Keywords: fruit juice, fraud, stable isotopes, quality control

3 - INTRODUÇÃO E OBJETIVO

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de frutas e uma das alternativas mais promissoras para seu aproveitamento é a produção de sucos, já que os mercados nacional e internacional mostram claramente tendências para elaboração de produtos mais próximos do natural, destacando-se os sucos clarificados e a utilização de polpas (LÓPEZ, 2004).

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas não alcoólicas (ABIR), no ano de 2007, o volume de sucos prontos produzidos no país foi de 429.389 milhões de litros e em 2008 foram produzidos 476.346 milhões de litros de sucos. Um aumento de 11,38%. Já no primeiro bimestre de 2009 houve um aumento de 7,49% em relação a 2008 (SUCO..., 2009). A categoria tem mostrado números crescentes, mas o mercado brasileiro ainda tem muito para expandir. Com um consumo per capita próximo a 2,5 litros por ano, bem abaixo do mercado americano (40 litros/ano), os fabricantes apostam em inovações para conquistar cada vez mais o mercado (SUCOS..., 2009). A expectativa é que a evolução do segmento continue acentuada.

Sendo o Brasil, o maior produtor mundial de maracujá, estima-se que a produção de sucos prontos dessa fruta acompanhe o mercado, tendo em vista sua grande aceitação pelo consumidor tanto pelo sabor, quanto pelas suas importantes características nutricionais.

Com o aumento do consumo das bebidas prontas, novas marcas estão aproveitando a situação favorável para se lançarem no mercado, acirrando a disputa com os principais fabricantes de sucos do país.

Para conseguirem redução de custos e conseqüente competitividade, ou até mesmo para obterem maiores lucros, algumas empresas praticam ações fraudulentas em prejuízo da qualidade das bebidas produzidas.

Os principais problemas de autenticidade são aqueles que surgem da substituição do ingrediente autêntico por componentes mais baratos (JEZEK et al., 2001). Os tipos de adulteração incluem diluição com água, adição de solução de açúcar, ácido cítrico e tartárico, e corantes ao suco puro e a adição de sucos mais baratos de outras frutas (OGRINC et al., 2003).

Como muitas das análises realizadas hoje não detectam a origem botânica das matérias-primas empregadas na formulação dessas bebidas, a fiscalização para verificação dos Padrões de Identidade e Qualidade não é eficiente.

A determinação dos isótopos estáveis dos bioelementos, hidrogênio, carbono, nitrogênio, oxigênio e enxofre em compostos orgânicos têm adquirido crescente importância para determinações da origem e controle da autenticidade dos gêneros alimentícios (WEBER et al., 1997). De acordo com Oliveira et al. (2002), o uso da razão isotópica do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$), tem sido largamente empregado no controle e inspeção de alimentos e bebidas. A metodologia isotópica é especialmente útil quando a composição de bebidas e alimentos baseia-se em misturas de compostos produzidos a partir de plantas de metabolismo fotossintético C_3 e C_4 , pois existe uma grande diferença entre a composição isotópica destes dois tipos de plantas.

Sendo o maracujá uma planta C_3 e a cana-de-açúcar C_4 , torna-se viável a utilização da análise isotópica como meio de detecção de fraude em bebidas que possuem como principal ingrediente a polpa ou o suco de maracujá.

O trabalho proposto foi realizado no Laboratório de Bebidas e no Centro de Isótopos Estáveis da Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Campus de Botucatu. Este último é credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para a realização de análises isotópicas de alimentos e bebidas.

No Brasil, o MAPA oficializou a análise da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ em produtos e subprodutos das plantas do ciclo fotossintético C_3 e C_4 através da Instrução Normativa nº 4, de 05 de fevereiro de 2001 (BRASIL, 2001).

Os objetivos deste trabalho foram desenvolver o método da análise isotópica para a quantificação de carbono do ciclo fotossintético C_3 e verificar a legalidade de bebidas de maracujá encontradas no mercado.

Esta pesquisa possui caráter original por ainda não existirem na literatura especializada publicações a respeito de análise isotópica em bebidas não alcoólicas a base de maracujá. Além disto, toda matéria-prima e produtos analisados são do mercado brasileiro.

4 – REVISÃO DE LITERATURA

4.1 – Isótopos estáveis

Isótopos são espécies atômicas de um mesmo elemento químico que apresentam diferente número de nêutrons e mesmo número de prótons em seu núcleo. Possuem, portanto massas distintas e números atômicos iguais. A expressão “estável” significa que não emitem radiação (energia ou partículas subatômicas), ou seja, não alteram sua massa ao longo de sua existência (MARTINELLI et al., 2009).

Os isótopos estáveis de grande interesse são: Carbono, Hidrogênio, Oxigênio, Nitrogênio e Enxofre. Eles ocorrem naturalmente na atmosfera, hidrosfera, litosfera e biosfera. Os isótopos mais leves, com menor massa atômica (^{12}C , ^1H , ^{16}O , ^{14}N , ^{32}S), são mais abundantes, enquanto que os isótopos que possuem massa atômica maior (^{13}C , ^2H , ^{17}O , ^{18}O , ^{15}N , ^{33}S , ^{34}S) são mais raros (DUCATTI, 2007), como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1. Ocorrência dos isótopos estáveis dos elementos H, C, N, O e S na natureza.

Isótopos Estáveis	Abundância átomos %	Isótopos Estáveis	Abundância átomos %
^1H	99,9844	^{16}O	99,7628
^2H	0,0156	^{17}O	0,0372
^{12}C	98,8890	^{18}O	0,2000
^{13}C	1,1110	^{32}S	95,0180
^{14}N	99,6340	^{33}S	0,7500
^{15}N	0,3660	^{34}S	4,2150
		^{36}S	0,0170

Fonte: DUCATTI (2007).

Abundância ou concentração isotópica (% de átomos de isótopo estável considerado) é a porcentagem de um isótopo em relação a todos do mesmo elemento que ocorrem naturalmente. Essa abundância é determinada através do espectrômetro de massa de razões isotópicas – IRMS ou espectrômetro de massa de razões isotópicas com dupla entrada – DI-IRMS (TRIVELIN, 2009).

O espectrômetro de massas é composto pelo sistema de admissão, fonte de ionização, analisador, sistema de vácuo, detector e computador (Figura 1). No sistema de admissão os isótopos dos elementos a serem analisados e o padrão são introduzidos na forma gasosa. Na fonte de ionização as amostras gasosas são transformadas em íons através de uma fonte por impacto de elétrons. No sistema analisador os íons são separados em um campo magnético de acordo com a relação massa/carga. O sistema de vácuo deve ser capaz de manter uma pressão muito baixa no analisador, no setor magnético e na região do coletor. Já no sistema de detecção os feixes iônicos característicos de cada feixe isotópico são coletados em copos de Faraday. As neutralizações destes íons resultam em correntes elétricas, as quais são amplificadas e registradas e finalmente no computador ocorre a aquisição dos dados (BOUTTON, 1996; PORTO, 2006; DUCATTI, 2007).

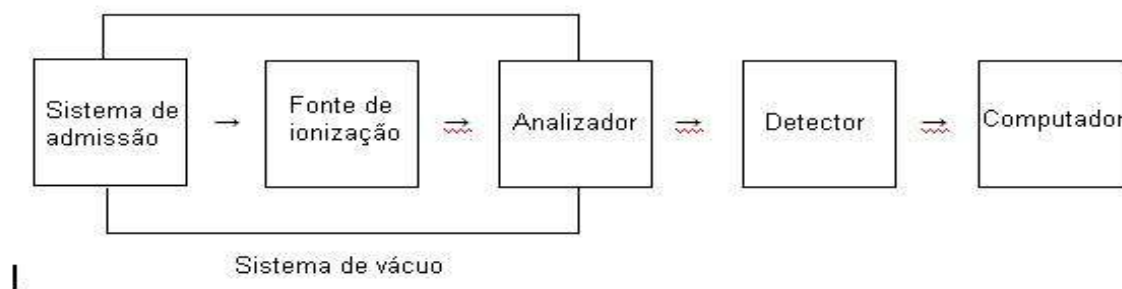


Figura 1. Diagrama esquemático dos componentes do espectrômetro de massas.

Os resultados obtidos podem ser expressos em átomos % (amostras enriquecidas) com precisão da ordem de 0,1% ou em termos de enriquecimentos relativos, expressos em delta per mil ($\delta\text{‰}$) (amostras com abundâncias isotópicas naturais), com precisão da ordem de 0,2‰ ou menos. Nos modernos equipamentos estes resultados podem ser obtidos simultaneamente (DUCATTI, 2007).

Os padrões introduzidos no sistema de admissão (padrões de trabalho) são previamente calibrados através dos padrões internacionais (tabela 4). Estes padrões internacionais não são utilizados a fim de se preservar seus estoques e foram escolhidos arbitrariamente como padrões primários (KELLY, 2003).

Para os isótopos estáveis do hidrogênio, o padrão internacional é o Vienna Standard Mean Ocean Water, V-SMOW. O ar atmosférico é o padrão para os isótopos estáveis do nitrogênio, o qual é considerado uma mistura isotópica homogênea na superfície terrestre. Para os isótopos estáveis do carbono o padrão é o Cretaceous carbonate fossil *Bellefleur* americana, da formação Peedee do Sul da Carolina/USA, abreviadamente V-PDB. Para os isótopos estáveis do enxofre o padrão considerado é o mineral troilita do meteorito Cañon Diable, abreviadamente CDT. Conforme Tabela 2, os padrões isotópicos do oxigênio podem ser o V-PDB ou V-SMOW, dependendo da sua aplicação (BARRIE; PROSSER, 1996; VERKOUTEREN, 2004).

Tabela 2. Razão isotópica absoluta dos padrões internacionais.

Razões isotópicas absolutas	Padrão Internacional
$^2\text{H}/^1\text{H} = 0,00015576$	Vienna standard mean ocean water; (SMOW)
$^{18}\text{O}/^{16}\text{O} = 0,00200520$	
$^{17}\text{O}/^{16}\text{O} = 0,0003730$	
$^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = 0,0112372$	Peedee Belemnite; (PDB)
$^{18}\text{O}/^{16}\text{O} = 0,0020671$	
$^{17}\text{O}/^{16}\text{O} = 0,0003790$	
$^{15}\text{N}/^{14}\text{N} = 0,0036765$	Nitrogênio Atmosférico; (N_2atm)
$^{34}\text{S}/^{32}\text{S} = 0,0450045$	Cañon Diable Meteorite Troilite; (CDT)
$^{33}\text{S}/^{32}\text{S} = 0,0081000$	

Adaptado: VERKOUTEREN (2004).

A determinação absoluta da razão isotópica ou da abundância isotópica limita-se a poucos estudos isotópicos. O maior interesse e volume das análises referem-se a determinações das diferenças das abundâncias isotópicas da amostra, comparativamente ao padrão, ou seja, a mensuração do enriquecimento isotópico relativo. Esta medida é calculada através da Equação 1.

$$\delta\%_o i(\text{amostra, padrão}) = [(r_{\text{amostra}} / r_{\text{padrão}}) - 1] * 1000 \quad (1)$$

Onde,

$\delta\%_o i(\text{amostra, padrão})$ = enriquecimento isotópico relativo da amostra *versus* o padrão, expresso em per mil (‰);

r = razão do isótopo pesado sobre o isótopo leve ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$; $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^2\text{H}/^1\text{H}$, etc.) da amostra e do padrão, respectivamente.

Como os valores numéricos das diferenças são pequenos, costuma-se multiplicar a expressão por 1000, obtendo-se a terminologia em delta per mil (KELLY, 2003).

Os padrões apresentam valores próximos à zero. Resultados positivos indicam que a amostra é mais pesada que o referido padrão e resultados negativos indicam que a amostra é mais leve (DUCATTI, 2007), como mostra a Figura 2.

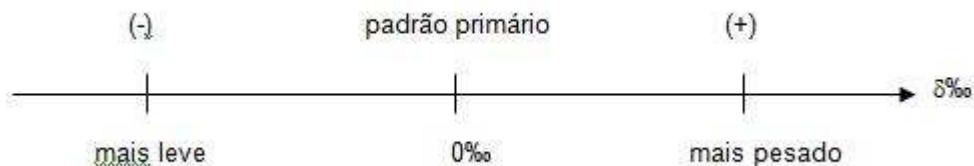


Figura 2. Régua isotópica com escala de $\delta\%_o$: amostra em relação ao padrão internacional.

4.2 - Ciclos fotossintéticos

A fotossíntese é o processo através do qual, as plantas e alguns outros organismos transformam energia luminosa em energia química utilizando o gás carbônico (CO_2), água (H_2O) e minerais em compostos orgânicos, produzindo oxigênio gasoso (O_2).

As etapas da fotossíntese ocorrem no cloroplasto, em três fases:

- absorção de energia luminosa;
- transformação da energia luminosa em energia química, e

- síntese de compostos orgânicos.

São necessários na terceira fase, a presença de energia química e gás carbônico. O CO_2 entra na planta através dos estômatos, passa para as células do mesófilo, onde entra nos ciclos fotossintéticos que resultarão da produção de carboidratos.

O $\delta^{13}\text{C}$ do CO_2 atmosférico tem valor isotópico de -8‰ . Este mesmo carbono é a fonte primária para as plantas terrestres realizarem a fotossíntese (TAIZ & ZEIGER, 2004).

As plantas em geral apresentam em sua constituição uma abundância ou assinatura isotópica de carbono (MINSON & LUDLOW, 1975), que varia conforme o modo de fixação do CO_2 atmosférico, sendo classificadas como plantas C_3 , plantas C_4 e CAM.

As propriedades químicas do $^{13}\text{CO}_2$ são idênticas às do $^{12}\text{CO}_2$, mas devido à leve diferença de massa (2,3%), a maioria das plantas assimila menos $^{13}\text{CO}_2$ do que $^{12}\text{CO}_2$. Em outras palavras, as plantas discriminam os isótopos mais pesados de carbono e elas têm razões $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ menores do que as encontradas no CO_2 atmosférico (TAIZ e ZEIGER, 2004).

As plantas com via fotossintética C_3 reduzem o CO_2 para fosfoglicerato (3 carbonos) através da enzima RuBP-carboxilase, que discrimina o $^{13}\text{CO}_2$, resultando em valores de $\delta^{13}\text{C}$ relativamente baixos, entre -32 e -23‰ com média de -27‰ (BOUTTON, 1991). Por outro lado, plantas C_4 , reduzem o CO_2 a ácido aspártico ou ácido málico, ambos compostos com 4 carbonos, através da enzima PEP-carboxilase, que não discrimina o ^{13}C , originando valores de $\delta^{13}\text{C}$ mais altos, entre -15 e -9‰ , com média de -13‰ (BOUTTON, 1991). Assim, as espécies C_3 e C_4 têm valores distintos de $\delta^{13}\text{C}$, que não se sobrepõem, sendo possível, portanto, a utilização desses valores na determinação da origem botânica desse carbono (OLIVEIRA et al., 2002). Esta diferença no enriquecimento isotópico existente nos vegetais também é observada nos seus produtos e subprodutos.

Segundo Boutton (1996) e O'Leary (1992), a discriminação isotópica do carbono nas plantas C_3 pode ser expressa pelo modelo elucidado por Farquhar et al. (1982):

A Equação 2, indica o comportamento do $\delta^{13}\text{C}$ nas plantas do ciclo fotossintético C_3 :

$$\delta^{13}\text{C}_{(\text{planta } C_3)} = \delta^{13}\text{C}_{(\text{CO}_2 \text{ atm.})} - [a + (b-a) \cdot (p_i/p_a)] - d \quad (2)$$

A simbologia empregada na expressão 2 significa:

- “ $\delta^{13}\text{C}_{(\text{planta } C_3)}$ ” enriquecimento relativo do tecido vegetal em relação ao padrão (PDB);

- “ $\delta^{13}\text{C}_{(\text{CO}_2 \text{ atm.})}$ ” o enriquecimento relativo do CO_2 atmosférico em relação ao padrão (PDB), possuindo valor modal de -8% ;

- “a” difusão do CO_2 pelos estômatos ($^{12}\text{CO}_2$ se difunde mais eficientemente que o $^{13}\text{CO}_2$, em função de ter uma menor massa atômica) ocorrendo fracionamento isotópico de $+4,4\%$;

- “b” Fracionamento devido à incorporação do CO_2 em um composto orgânico no ciclo bioquímico de síntese orgânica. O CO_2 , através da ação da enzima RuBP-carboxilase, reage com um composto de 5 carbonos, formando duas moléculas de 3-PGA. Nesta etapa, ocorre grande fracionamento isotópico na ordem de $+30\%$, resultando novamente no enriquecimento de $^{12}\text{CO}_2$ e diminuição na concentração de $^{13}\text{CO}_2$.

- “ p_i/p_a ” relação entre a pressão intercelular de CO_2 (p_i) e a pressão ambiental de CO_2 (p_a), variando conforme a abertura dos estômatos (estômato fechado: $p_i/p_a = 0$, estômato aberto: $p_i/p_a = 1$);

- “d” outros fatores isotopicamente desprezíveis.

Os valores positivos (a, b) indicam que o produto apresenta maior concentração de ^{12}C que o estágio inicial, ao passo que valores negativos indicam enriquecimento de ^{13}C . Observa-se, também, que os termos são constantes e a única variável é a relação p_i/p_a .

Assim como na plantas C_3 , a discriminação isotópica em plantas C_4 pode ser expressa pela Equação 3 (BOUTTON, 1996; O’LEARY, 1992; FARQUHAR, 1983):

$$\delta^{13}\text{C}_{(\text{planta } C_4)} = \delta^{13}\text{C}_{(\text{CO}_2 \text{ atm.})} - [a + (b_4 + \Phi b_3 - a) (p_i/p_a)] \quad (3)$$

Na Equação 3, os principais fatores do fracionamento isotópico significam:

- “b₄” após entrar pelos estômatos, o CO₂ segue para as células do mesófilo foliar, onde ocorre a passagem do CO₂ para HCO₃⁻. Nesta reação as duas formas de carbono CO₂ (¹³CO₂ e ¹²CO₂), reagem de maneira diferenciada gerando diferença isotópica no produto final. Para esta reação atribui-se um valor $\epsilon_4 = -8\%$, ocorrendo aumento da concentração de ¹³C. Após a formação de HCO₃⁻, ainda nas células do mesófilo, ocorre a incorporação desse produto em um transportador (malato ou aspartato) pela ação da enzima PEP-carboxilase. Nestas reações ocorre o fracionamento isotópico com valor $b'_4 = +2\%$. Portanto, o efeito líquido da incorporação do CO₂ em um transportador será expresso por um valor denominado $b_4 = \epsilon_4 + b'_4$, ou seja, $b_4 = -6\%$.

- “b₃” significa incorporação do CO₂ em um composto orgânico pela ação da RuBP- carboxilase nas células da bainha, na qual ocorre grande fracionamento isotópico, atribuindo-se um valor de +30%, ocorrendo enriquecimento do ¹²CO₂ e diminuição da concentração de ¹³CO₂.

- “Φ” o CO₂ incorporado em uma molécula de malato ou aspartato é transportado para as células da bainha, onde entra no ciclo bioquímico de síntese orgânica idêntico ao ciclo das plantas C₃. Neste momento, parte do CO₂, ao invés de entrar neste ciclo, pode retornar para as células do mesófilo podendo ser reincorporado ou retornar à atmosfera. Esta taxa de CO₂ que retorna para as células da bainha já foi estimada em 0,37.

4.3 - Diluição isotópica

Quando duas fontes que diferem isotopicamente entre si são misturadas uniformemente, a composição do produto gerado reflete a contribuição isotópica destas duas fontes, assim como, a quantidade relativa de cada uma delas. Este é o princípio básico da diluição isotópica.

A mensuração quantitativa pode ser obtida pela Equação 4, cujo valor de ¹³C do produto reflete a proporção de ¹³C de cada fonte (DUCATTI, 2007).

$$\left\{ \begin{array}{l} \delta a * C_3 + \delta b * C_4 = \delta \text{ produto} \\ C_3 + C_4 = 1 \end{array} \right. \quad (4)$$

A simbologia empregada nas equações (4) significa:

- δ_a = enriquecimento isotópico relativo ($\delta^{13}\text{C}$) das fontes de carbono C_3 (maracujá);
- C_3 = proporção relativa da fonte C_3 ;
- δ_b = enriquecimento isotópico relativo ($\delta^{13}\text{C}$) das fontes de carbono C_4 (açúcar de cana);
- C_4 = proporção relativa da fonte C_4 ;
- δ_{produto} = enriquecimento isotópico relativo ($\delta^{13}\text{C}$) do produto (bebida).

4.4 – Fraudes em alimentos e bebidas e o ‘estado da arte’ dos isótopos estáveis de carbono em testes de autenticidade

A qualidade de alimentos e bebidas tornou-se um problema mundial e é cada vez mais importante detectar a introdução, no mercado, de produtos adulterados e de qualidade inferior (EGITO et al., 2006). A autenticação de alimentos envolve a maioria dos gêneros alimentícios, em particular produtos a base de frutas (FÜGEL et al., 2005).

O desenvolvimento de diferentes técnicas para a autenticação de alimentos e bebidas tem aumentado significativamente com a crescente consciência do consumidor, bem como é de interesse de empresas que não desejam a competição injusta com empresários sem escrúpulos que ganham vantagens econômicas através de práticas fraudulentas observadas nas indústrias (REID et al., 2006).

A autenticação definitiva e efetiva de produtos alimentícios requer o uso de técnicas analíticas altamente sofisticadas, pois os perpetradores das fraudes empregam métodos de adulteração e falsificação que são cada vez mais difíceis de descobrir. (REID et al., 2006).

A análise isotópica, talvez seja a mais sofisticada e específica técnica para estas avaliações e esta sendo largamente aplicada em testes de autenticidade de sucos de frutas como os de laranja e maçã (SIMPKINS et al., 2000; REID et al., 2006)

O desenvolvimento da técnica de isótopos estáveis de carbono iniciou-se nas Ciências Geológicas e rapidamente foi introduzida na área de alimentos e bebidas para a determinação da origem vegetal dos produtos (ROSSMAN, 2001) e nos últimos anos vem se tornando um interessante instrumento analítico para confirmar a qualidade dos produtos alimentícios (KAROUI et al., 2007).

A mais importante aplicação, em alimentos, de valores da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ tem sido na detecção de misturas de substâncias derivadas de plantas C_3 e C_4 (DONER, 1988).

Um dos primeiros exemplos do uso da análise da razão dos isótopos estáveis, especialmente de isótopos de carbono, em controle de alimentos foi detecção de açúcares produzidos por plantas C_4 , como o milho ou a cana em produtos de plantas C_3 , como sucos de cítricos, maçã, ou uva. Os primeiros métodos foram propostos no fim dos anos 70 e reconhecidos oficialmente pouco depois (ROSSMAN, 2001). Desde então, vários trabalhos foram e vêm sendo desenvolvidos utilizando a metodologia isotópica.

A relevância deste método para avaliar a autenticidade de bebidas pode ser verificada pelo número de trabalhos publicados. Alguns deles: Doner et al., (1980) - suco de maçã; Krueger and Reesman, (1982) - suco de uva; Hong and Wrolstad, (1986) - suco de uva-do-monte; Koziat et al., (1993) – sucos de laranja, abacaxi; Rossmann et al., (1997) – sucos de laranja, grapefruit e abacaxi; Weber et al., (1997) – vinho; Parker et al. (1998) – uísque; Rossi et al, (1999) - mel de diferentes origens botânicas no Brasil; Guillou et al. (1999) - suco de laranja, abacaxi e grapefruit de Israel, do Brasil e da Indonésia; Simpkins et al, (2000) – sucos de laranja; Guillou et al., (2001) – vinho e produtos derivados da uva; Oliveira et al. (2002) – café, vinho, cerveja e vodka, de diferentes marcas e procedências, comercializadas no Brasil; Ogrinc et al, (2003) – vinho, suco de frutas (laranja, limão e grapefruit), azeite de oliva; Martinelli et al, (2003) – vinho e gás carbônico de vinhos espumantes; Jamin et al, (2004) – etanol derivado de suco de frutas (laranja, abacaxi, maçã) e xarope de *maple*; Redondo e Yélamos, (2005) – gás carbônico em águas; Kirsten et al., (2006) – pitaya púrpura; Cotte et al., (2007) – mel; Calderone et al., (2007) – gás carbônico de bebidas espumantes; Queiroz et al., (2008) – bebidas a base de laranja; Queiroz et al., (2009) – bebidas a base de laranja.

4.5 – Maracujá

Maracujá é uma palavra de origem indígena cujo significado é “comida preparada em cuia”. O fruto é conhecido mundialmente como fruta da paixão (CEPA, 1998).

O maracujá pertence à família *Passifloraceae*. Dentro dela existem aproximadamente 16 gêneros e 650 espécies espalhadas pelo mundo, principalmente na América do Sul e África Tropical. O gênero predominante na família é *Passiflora L.*, com aproximadamente 400 espécies distribuídas na região centro-norte do Brasil (POZZI, 2007). Apesar da ampla variabilidade genética existente no gênero, as espécies que produzem frutos comestíveis (cerca de 70) são as que apresentam maior importância econômica (PEREIRA et al., 1971; CUNHA et al., 2004 citados por MAIA et al., 2007).

Das Passifloras, a espécie mais cultivada é a *Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg. que tem como nome vulgar, maracujá amarelo ou maracujá azedo, por ser mais vigorosa, mais adaptável aos dias quentes, apresentar frutos de maior tamanho, maior produção por hectare, maior acidez total e maior rendimento em suco, seguida pela *Passiflora alata* Curtis ou maracujá-doce. A espécie *Passiflora edulis* Sims., conhecida como maracujá-roxo, é muito cultivada na Austrália, África e sudeste asiático. Estima-se que as espécies *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. edulis* ocupem mais de 90% da área cultivada com maracujá no mundo (LIMA, 1999; JUNQUEIRA et al., 2005).

O maracujazeiro é originário da América Tropical e no Brasil encontra excelentes condições para seu cultivo (LIMA, 1999; RONCATTO, 2008). Pode adaptar-se perfeitamente a regiões de clima seco, desde que devidamente irrigada. Pode ser plantada em qualquer região exceto onde ocorrem geadas. Desenvolve-se em diferentes tipos de solos desde que relativamente profundos, férteis e de boa drenagem (CEPA, 1998). É uma planta trepadeira de grande porte, lenhosa, perene, de crescimento rápido, vigoroso, contínuo e exuberante (LIMA, 1999). O fruto é uma baga globosa, apresentando tamanho, formato, peso, coloração e sabor variados, conforme a espécie. Segundo Figueiredo et al. (1987) (citado por MAIA et al., 2007), variações nas medidas físicas dos frutos são bastante comuns até dentro da mesma variedade, ocorrendo em função de estágio de maturação, idade da planta, latitude, origem das sementes, entre outros fatores. A polpa geralmente é amarela-alaranjada e possui de 200 a 300 sementes (CASTRO, 1998).

O maracujá é um fruto muito apreciado pelas qualidades gustativas, farmacêuticas e alimentares. Tem sido bastante consumido devido seu aroma e acidez acentuados. É rico em minerais e vitaminas, principalmente A e C.

As Tabelas 3 e 4 informam as principais características químicas e físico-químicas e a composição nutricional da polpa do maracujá-amarelo.

Tabela 3. Características químicas e físico-químicas do maracujá-amarelo.

Características	TOCCHINI et al. (1994)	DE MARCHI et al.(2000)	MAIA (2001)
Sólidos solúveis totais (^o Brix)	12,50 - 18,00	13,75 - 14,53	11,00 – 14,00
Acidez (g/100g)	2,90 - 5,00	3,91 - 4,37	3,04 - 3,94
pH	2,80 - 3,30	2,90 - 3,02	2,80 - 3,00
Açúcares totais (g/100g)	8,30 - 11,60	-	5,00 - 8,50
Açúcares redutores (g/100g)	5,00 - 9,20		

Fonte: MAIA (2007)

Vários fatores podem influenciar nas características físico-químicas do maracujá, dentre eles, o estágio de maturação, idade das plantas, condições climáticas, estado nutricional, polinização e fertilização do solo (RITZINGER et al., 1989; COSTA et al., 2001 citados por MAIA et al., 2007).

Tabela 4. Composição nutricional do maracujá-amarelo.

Composição	Maracujá-amarelo
Água (g)	82,90
Energia (Kcal)	68,00
Proteína (g)	2,00
Lipídeos (g)	2,10
Cinzas (g)	0,80
Carboidratos (g)	12,30
Fibra alimentar (g)	1,10
Cálcio (mg)	5,00
Ferro (mg)	0,60
Magnésio (mg)	28,00
Manganês (mg)	0,12
Fósforo (mg)	51,00
Potássio (mg)	338,00
Sódio (mg)	2,00
Zinco (mg)	0,40
Cobre (mg)	0,19
Vitamina C (mg)	18,20
Riboflavina (mg)	0,05
Piridoxina (mg)	0,05

Fonte: TACO (2006).

4.5.1 - Dados de mercado

O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de maracujá. Os maiores Estados produtores são Bahia, São Paulo, Sergipe, Espírito Santo, Pará, Ceará e Minas Gerais (IBGE, 2007).

A produção nacional deu um salto em 2006 depois de uma queda em 2005, alcançando uma produção de 615.196 t (AGRIANUAL, 2009), conforme Figura 3.

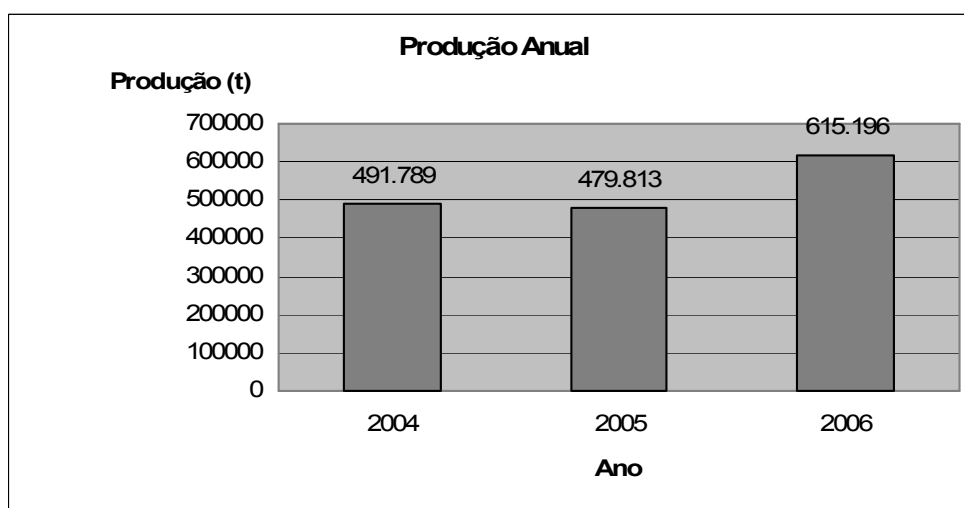


Figura 3. Produção Anual de Maracujá

O maracujá azedo representa em torno de 97% da área plantada e do volume comercializado em todo País. Estima-se que mais de 60% da produção brasileira de maracujá azedo sejam vendidos em sacolões, feiras e supermercados para o consumo *in natura*. O restante é destinado às indústrias de processamento, principalmente para extração da polpa e fabricação de sucos (AGRIANUAL, 2007).

A exportação de maracujá ocorre nas formas de fruta fresca, fruta conservada e suco concentrado. A Argentina e o Uruguai são compradores de frutas frescas, já as formas processadas, têm como principal destino os países europeus. As frutas conservadas (congelados) e os sucos concentrados são a maior parcela da exportação, sendo que as frutas conservadas têm sido comercializadas principalmente para os mercados italiano, norte-americano, alemão e argentino. As exportações de fruta fresca têm-se restringido a 1,5%. Os

sucos representam os maiores ganhos em divisas, comercializado mais intensamente com Holanda, Estados Unidos, Porto Rico, Japão e Alemanha, os quais importam 76% do suco concentrado (LIMA, 2006).

4.6 - Bebidas a base de Maracujá

De acordo com Cabral et al. (2005), os produtos formulados e prontos para o consumo, tais como suco tropical, suco concentrado, néctar e refresco de maracujá, diferem basicamente pela quantidade de polpa ou suco de fruta integral presente em cada um. A adição de água e demais ingredientes, como açúcares e ácidos, é função do padrão definido para cada produto.

No Brasil, a normatização do registro, padronização, classificação, inspeção e fiscalização da produção e comércio de bebidas ficam a cargo do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (CLETO; CONSOLINI, 2005).

a) Suco

De acordo com o Decreto nº 6.871 de 4 de Junho de 2009, suco ou sumo é bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, obtida da fruta madura e sã, ou parte do vegetal de origem, por processamento tecnológico adequado, submetida a tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo.

É proibida a adição de aromas e corantes artificiais e não será permitida a associação de açúcares e edulcorantes hipocalóricos e não-calóricos.

O suco não poderá conter substâncias estranhas à fruta ou parte do vegetal de sua origem, excetuadas as previstas na legislação específica.

O suco poderá ser adicionado de açúcares na quantidade máxima fixada para cada tipo de suco, observado o percentual máximo de dez por cento em peso, calculado em gramas de açúcar por cem gramas de suco, tendo sua denominação acrescida pela designação adoçado.

No rótulo da embalagem ou vasilhame do suco será mencionado o nome da fruta, ou parte do vegetal, de sua origem.

Segundo Brasil (2000), suco de maracujá é a bebida não fermentada e não diluída, obtida da parte comestível do Maracujá (*Passiflora* spp.), através de processo tecnológico adequado.

Ainda segundo Brasil (2000), o suco de maracujá deve obedecer às características sensoriais abaixo:

Cor: de amarela a alaranjado

Sabor: próprio e ácido

Aroma: Próprio

O suco de maracujá deve apresentar os padrões de identidade e qualidade de acordo com a Tabela 5.

Tabela 5: Padrões de identidade e qualidade do suco de maracujá.

Características	Mínimo	Máximo
Sólidos solúveis em °Brix, a 20°C	11,00	-
Acidez total em ácido cítrico (g/100g)	2,5	-
Açúcares totais (g/100g)	-	18,00

Fonte: BRASIL (2000).

O Suco de maracujá deverá obedecer aos Padrões de Identidade e Qualidade fixados para suco de fruta.

a.1) Suco integral

Suco integral é o suco sem adição de açúcar e na sua concentração natural, sendo vedada o uso de tal designação para o suco reconstituído (BRASIL, 2009).

a.2) Suco reconstituído

Suco reconstituído é o suco obtido pela diluição de suco concentrado ou desidratado, até a concentração original do suco integral ou ao teor de sólidos solúveis mínimo estabelecido nos respectivos padrões de identidade e qualidade para cada tipo de suco

integral, sendo obrigatório constar de sua rotulagem a origem do suco utilizado para sua elaboração, se concentrado ou desidratado, sendo opcional o uso da expressão "reconstituído" (BRASIL, 2009).

a.3) Suco concentrado

Suco concentrado é o suco que for parcialmente desidratado, devendo mencionar no rótulo o percentual de sua concentração (BRASIL, 2009).

a.4) Suco Tropical

De acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2003), suco tropical é o produto obtido pela dissolução, em água potável, da polpa da fruta polposa de origem tropical, por meio de processo tecnológico adequado, não fermentado, de cor, aroma e sabor característicos da fruta, submetido a tratamento que assegure sua conservação e apresentação até o momento do consumo.

O suco tropical classifica-se em:

- Suco Tropical de (nome da fruta): é o suco originado da fruta em si.
- Suco Tropical Misto de (nomes das frutas): é o suco obtido de duas ou mais frutas. É opcional a designação: "Misto".

É vedada a designação de "Suco Tropical" ao suco que não necessite de água na sua elaboração e que não seja proveniente de fruta de origem tropical.

Define-se suco tropical de maracujá como a bebida não fermentada, obtida pela dissolução, em água potável, da polpa do maracujá (*Passiflora*, ssp), por meio de processo tecnológico adequado.

Ainda segundo Brasil (2003), o suco tropical de maracujá deve obedecer às características sensoriais abaixo:

- Cor: variando de amarela a alaranjada;
- Sabor: próprio;
- Aroma: próprio.

O suco tropical de maracujá deve apresentar os padrões de identidade e qualidade de acordo com a Tabela 6.

Tabela 6. Padrões de identidade e qualidade do suco tropical de maracujá.

Características	Não adoçado		Adoçado	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Polpa de maracujá (g/100g)	50,00	-	12,00	-
Sólidos solúveis em °Brix, a 20°C	6,00	-	11,00	-
Acidez total em ácido cítrico (g/100g)	1,25	-	0,27	-
Açúcares totais (g/100g)	-	9,00	8,00	-

Fonte : BRASIL (2003)

O Suco Tropical de Maracujá deve obedecer aos Padrões de Identidade e Qualidade Gerais, fixados para o Suco Tropical.

b) Polpa

De acordo com os padrões de identidade e qualidade da legislação brasileira (BRASIL, 200), polpa de fruta é o produto não fermentado, não concentrado, não diluído, obtido de frutos polposos, através de processo tecnológico adequado, com um teor mínimo de sólidos totais, proveniente da parte comestível do fruto. O teor mínimo de sólidos totais será estabelecido para cada polpa de fruta específica.

A polpa de fruta destinada à industrialização de outras bebidas e não destinado ao consumo direto poderá ser adicionada de aditivos químicos previstos para a bebida a que se destina. Na polpa de fruta poderá ser adicionado de acidulantes como regulador de acidez, conservadores químicos e corantes naturais, nos mesmos limites estabelecidos para sucos de frutas, ressalvados os casos específicos.

A polpa de fruta se classifica em:

- Polpa de fruta simples: são polpas originadas de uma única fruta.
- Polpa de fruta mista: são polpas originadas de duas ou mais frutas.

A polpa de fruta será obtida de frutas frescas, sãs e maduras com características físicas, químicas e organolépticas do fruto. Além disso não poderá conter terra, sujidade, parasitas, fragmentos de insetos e pedaços das partes não comestíveis da fruta e da planta.

Define-se polpa de maracujá como o produto não fermentado e não diluído, obtido da parte comestível do maracujá (*Passiflora*, spp.), através de processo tecnológico adequado, com teor mínimo de sólidos totais.

Ainda segundo Brasil (2000) polpa de maracujá deverá obedecer as seguintes características sensoriais:

Cor: de amarelo a alaranjado

Sabor: ácido

Aroma: próprio

A Tabela 7 contém os padrões de identidade e qualidade da polpa de maracujá.

Tabela 7: Padrões de identidade e qualidade da polpa de maracujá.

Composição	Mín.	Máx.
pH	2,7	3,8
Sólidos solúveis em °Brix á 20°C	11,00	-
Acidez total expressa em ácido cítrico (g/100g)	2,50	-
Açúcares totais, naturais do maracujá (g/100g)	-	18,00
Sólidos totais (g/100g)	11,00	-

Fonte: BRASIL (2000).

A polpa de maracujá deverá obedecer aos Padrões de Identidade e Qualidade fixados para polpa de fruta.

c) Néctar

Segundo o Decreto nº 2314, de 04 de setembro de 1997, néctar é a bebida não fermentada, obtida da diluição em água potável da parte comestível do vegetal e açúcares ou de extrato vegetais e açúcares, podendo ser adicionada de ácidos, e destinada ao consumo direto.

Não será permitida a associação de açúcares e edulcorantes hipocalóricos e não-calóricos na fabricação de néctar.

De acordo com os padrões de identidade e qualidade da legislação brasileira (BRASIL, 2003), néctar de maracujá é a bebida não fermentada, obtida da dissolução, em água potável, da parte comestível do maracujá (*Passiflora* spp) e açúcares, destinado ao consumo direto, podendo ser adicionado de ácidos.

Ainda segundo Brasil (2003), o néctar de maracujá deve obedecer às características sensoriais abaixo:

- Cor: variando de amarela a alaranjada;
- Sabor: característico;
- Aroma: próprio.

Os padrões de identidade e qualidade do néctar de maracujá estão descritos na tabela 8.

Tabela 8: Padrões de identidade e qualidade do néctar de maracujá.

Parâmetros	Mínimo	Máximo
Polpa de maracujá (g/100g)	10,00	-
Sólidos solúveis em °Brix, a 20°C	11,00	-
Acidez total em ácido cítrico (g/100g)	0,25	-
Açúcares totais (g/100g)	7,00	-

Fonte: BRASIL (2003).

d) Bebidas dietéticas e de baixa caloria

De acordo com a Instrução Normativa nº 30 de 29 de Setembro de 1999, bebida dietética é a bebida não-alcoólica e hipocalórica, devendo ter o conteúdo de açúcares adicionados normalmente na bebida convencional, inteiramente substituído por edulcorantes hipocalóricos ou não-calóricos, naturais ou artificiais, com teor de açúcares (monossacarídeos e dissacarídeos) menor que meio grama por cem mililitros da bebida pronta para consumo.

Bebida de Baixa Caloria é a bebida não-alcoólica e hipocalórica, devendo ter o conteúdo de açúcares adicionados normalmente na bebida convencional, inteiramente substituído por edulcorantes hipocalóricos e não - calóricos, naturais ou

artificiais, exceto para o preparado sólido para refresco, que poderá conter o conteúdo de açúcar parcialmente substituído por edulcorantes hipocalóricos e não-calóricos, naturais ou artificiais, e cujo teor calórico não ultrapasse a 20 (vinte) Kcal por 100mL da bebida.

A bebida dietética deverá ter a designação da bebida convencional seguida do termo "Dietética (o)". Deverá apresentar os mesmos ingredientes da bebida convencional, exceto quanto ao teor de açúcares (monossacarídeos e dissacarídeos), que deve ser inferior a 0,5 (meio) grama por 100 mL da bebida, e quanto aos aditivos adicionados.

A bebida de baixa caloria terá a designação da bebida convencional seguida do termo "de Baixa Caloria". Deverá apresentar os mesmos ingredientes da bebida convencional, exceto quanto ao conteúdo de açúcares adicionado normalmente na bebida convencional, que deve ser inteiramente substituído por edulcorantes hipocalóricos e não-calóricos, naturais ou artificiais, exceto para o preparado sólido para refresco, que poderá conter o conteúdo de açúcar parcialmente substituído por edulcorantes hipocalóricos e não-calóricos, naturais ou artificiais, e cujo teor calórico não ultrapasse a 20 (vinte) Kcal por 100ml da bebida, e quanto aos aditivos adicionados.

As composições da bebida dietética e da bebida de baixa caloria deverão ser próprias, de forma a garantir as características organolépticas semelhantes às da bebida convencional.

Nas bebidas não-alcoólicas tais como os néctares, refrescos, refrigerantes, preparados sólidos ou líquidos para refrescos, que contenham sucos ou polpas de frutas, os açúcares naturais originais da própria fruta não são considerados açúcares adicionados. Os tipos de edulcorantes e seus limites máximos deverão observar as legislações específicas para edulcorantes.

A bebida dietética e a de baixa caloria deverão ter as características sensoriais semelhantes as da bebida convencional, com exceção das características próprias provenientes da substituição dos açúcares pelos edulcorantes, ou pela mudança dos aditivos utilizados. As características físico-químicas da bebida dietética e da de baixa caloria deverão ser próprias, observados os percentuais de suco, polpa ou extrato vegetal fixados para as bebidas convencionais.

4.7 - Valor Energético

O valor calórico ou valor energético de um alimento se refere à energia que esse alimento fornece quando ingerido pelo organismo. É a energia necessária para o desempenho de todas as atividades físicas e para realizar o metabolismo do nosso corpo (MARTINES, 2006). Os macronutrientes, proteína, carboidrato e gordura contêm a energia que aciona o trabalho biológico em nosso organismo.

A unidade padrão de energia é a caloria, que é a quantidade de energia térmica necessária para se elevar em 1 grau Celsius a temperatura de 1 quilograma (equivalente a 1 litro) de água”. Devido ao fato da quantidade de energia envolvida no metabolismo dos gêneros alimentícios ser muito alta, a quilocaloria, igual a 1000 calorias, é comumente utilizada. Uma convenção permite a adoção dos termos kcal e calorias para expressar a quantidade de energia envolvida no metabolismo de alimentos (BRASIL, 2005).

O quilojoule (kJ), assim como a quilocaloria, é uma unidade de energia usada para medir calor. Cada caloria corresponde a 4,186 *Joules*. A caloria é uma medida mais conhecida da população e usada com freqüência (kcal). Desse modo, basta converter as medidas em quilojoules para quilocalorias dividindo o primeiro por 4,186 (BRASIL, 2005).

No Brasil, o valor energético de diferentes produtos alimentícios deve ser expresso em kcal e kJ, declarado em números inteiros. A legislação permite um erro de 20%, para mais ou para menos, nos valores de componentes nutricionais informados nos rótulos dos produtos em relação ao encontrado na análise (BRASIL, 2003b).

Algumas das formas de se determinar o valor energético de um alimento são a composição centesimal e a tabela de composição de alimentos.

a) Composição Centesimal

A composição centesimal incluiu a determinação do teor de umidade, proteínas, lipídeos totais, carboidratos totais, fibra alimentar total e cinzas através de métodos analíticos laboratoriais (TACO, 2006). A quantidade do valor energético a ser declarada deve ser calculada utilizando-se os seguintes fatores de conversão: Carboidratos (exceto polióis) 4 kcal/g - 17 kJ/g; Proteínas 4 kcal/g - 17 kJ/g; Gorduras 9 kcal/g - 37 kJ/g (BRASIL, 2003).

b) Tabela de Composição de Alimentos

As tabelas de composição de alimentos precisam ser confiáveis, atualizadas e mais completas possíveis, baseadas em análises originais conduzidas de acordo com plano de amostragem representativo e métodos validados, a fim de fornecer informações que verdadeiramente representem a composição dos alimentos do país. (TACO, 2006).

A tabela de composição de alimentos é formada, basicamente, dos seguintes elementos: umidade, energia, proteína, lipídio, cinzas, carboidrato, fibra alimentar, açúcares totais, minerais e vitaminas.

5 – MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Bebidas da Faculdade de Ciências Agronômicas e no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, UNESP - Campus Botucatu.

5.1 - Materiais

- Polpa fresca de maracujá extraída de frutas do mercado local;
- Polpas de maracujá congeladas comercializadas no mercado brasileiro;
- Polpa concentrada de maracujá, doada por indústria produtora de sucos e néctares;
- Bebidas de maracujá comercializadas no mercado brasileiro;
- Diferentes tipos de açúcar de cana, doados por usina do estado de São Paulo;
- Bebidas de maracujá produzidas em Laboratório;
- Ácido cítrico, ácido ascórbico, aroma de maracujá e edulcorantes usados na elaboração das bebidas comerciais, doados pelas empresas produtoras dos sucos e néctares.

5.2 – Metodologia

1ª Etapa – Obtenção de bebidas padrão e de bebidas adulteradas.

As bebidas de maracujá prontas para beber (néctar e suco tropical adoçado) foram produzidas em laboratório, a partir de seus respectivos Padrões de Identidade

e Qualidade, definidos pelo MAPA. Também foram produzidos néctares e sucos tropicais adulterados com açúcar, água e quantidade insuficiente de polpa (<10% m/m para néctar e <12% m/m para suco tropical adoçado).

Através de balanço de massas (Equação 5), foram calculadas as quantidades de água destilada e açúcar de cana adicionados á polpa de maracujá a 11°Brix (valor mínimo determinado pela legislação), para a produção de 250 g das bebidas. As porcentagens de polpa utilizadas foram 1, 3, 5, 7, 9, 10, 11, 12, 13 e 15. As quantidades de polpa correspondentes em gramas utilizadas foram 2,5; 7,5; 12,5; 17,5; 22,5; 25; 27,5; 30; 32,5; 37,5 g.

A concentração final de sólidos solúveis das bebidas também foi de 11 °Brix (valor mínimo determinado pela legislação).

$$\left\{ \begin{array}{l} M_{H_2O} * B_{H_2O} + M_A * B_A + M_P * B_P = M_S * B_S \\ M_{H_2O} + M_A + M_P = M_S \end{array} \right. \quad (5)$$

Sendo: M_{H_2O} – massa de água;

B_{H_2O} - °Brix da água (0);

M_A – massa de açúcar;

B_A - °Brix do açúcar (100);

M_P – massa de polpa (crescente de 0 a 50g de acordo com o exposto acima);

B_P - °Brix da polpa (11);

M_S – massa de suco ou néctar (250g);

B_S - °Brix do suco ou néctar (11).

Através dos resultados obtidos pelo balanço de massa, calculou-se a quantidade teórica de fonte C_3 (% de sólidos solúveis da polpa) nos néctares e sucos tropicais, a partir da Equação 6 para °Brix.

$$^{\circ}\text{Brix} = \frac{\text{Massa de Sólidos Solúveis}}{\text{Massa da Solução}} * 100 \quad (6)$$

2ª Etapa - Análises químicas das matérias-primas, bebidas comerciais e produzidas em laboratório.

As polpas de maracujá, bebidas comerciais e produzidas em laboratório foram analisadas em triplicata em relação ao teor de sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$), acidez titulável (gramas de ácido cítrico/100 mL), *ratio* e pH.

Sólidos Solúveis

As análises de Sólidos solúveis foram feitas em Densímetro Digital (Mettler; modelo KEM DA-310). As amostras foram injetadas diretamente no equipamento para leitura da densidade à 20°C. O valor da densidade foi convertido para $^{\circ}\text{Brix}$, através de tabela.

Acidez titulável

A determinação de acidez titulável foi feita de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005), através da técnica de volumetria potenciométrica.

Foram adicionados em um béquer de 250 mL, 10 mL de amostra e 100 mL de água. Esta solução foi levada ao potenciômetro sob agitação. O volume gasto de hidróxido de sódio 0,1 M durante a titulação até a faixa de pH 8,2/8,4 foi usado na fórmula de determinação da acidez. Os resultados foram expressos em gramas de ácido cítrico/100mL de amostra.

$$\text{Acidez Titulável} = \frac{M * V * 64}{V_a * 1000} * 100 \quad (7)$$

Sendo: M = molaridade de NaOH;

V = volume médio de NaOH titulado (mL);

64 = número de equivalente grama do ácido cítrico (C₆H₈O₇);

V_a = volume de amostra utilizada (10 mL).

Ratio

Razão entre °Brix e acidez titulável, conforme a Equação 8. Os resultados destas análises são adimensionais.

$$Ratio = \frac{^{\circ}Brix}{Acidez\ Titulável} \quad (8)$$

pH

A leitura do pH foi realizada em potenciômetro digital (Micronal, B474).

3ª Etapa – Análise isotópica das matérias-primas, dos sucos tropicais adoçados e dos néctares de maracujá comerciais e produzidos em laboratório.

Duas amostras de cada matéria-prima foram analisadas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais, Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Botucatu.

- As amostras sólidas, como aditivos (ácidos cítrico e ascórbico) e açúcares (cristal, cristal especial, refinado e refinado granulado) foram moídas em moinho criogênico de nitrogênio líquido (Spex CertiPrep 6750 Freezer/Mill), durante três minutos na temperatura de -196°C, para obter uma textura fina (< 65µm) e homogênea. Foram pesados de 50 a 60 µg de cada amostra e colocadas em cápsulas de estanho. Em seguida as cápsulas foram colocadas no Analisador Elementar (EA 1108 – CHN – Fisons Elemental Analyzer) para serem queimadas (*flash* combustão) na temperatura de 1020°C liberando CO₂⁺. Este gás foi comparado com o CO₂ padrão para a determinação do δ‰¹³C no Espectrômetro de Massa de Razões Isotópicas (Delta S Finnigan Mat).

- Os açúcares líquido e invertido foram primeiramente diluídos até a concentração de 11°Brix. Foram pipetados 0,3 µL de cada amostra e colocadas em cápsulas de estanho. Em seguida as cápsulas foram colocadas no Analisador Elementar para queima.

- A polpa de maracujá a 11°Brix, os sucos tropicais adoçados e os néctares de maracujá comerciais e produzidos em laboratório foram pipetados (0,3 µL), colocados em cápsulas de estanho e levadas para o Analisador Elementar. Suas frações sólidos insolúveis e açúcar purificado também foram analisados. Desta forma, foi possível verificar qual dos dois métodos (análise isotópica do produto ou análise isotópica do seu açúcar) é o mais indicado para verificar a proporção de fonte C₃ nos sucos tropicais e néctares de maracujá.

Obtenção dos sólidos insolúveis

Para separar e purificar os sólidos insolúveis (padrão interno) foi utilizada a metodologia de Rossmann et al. (1997). Foram centrifugados 100 mL do suco tropical adoçado ou néctar de maracujá a 4500 rpm durante 5 minutos para precipitação dos sólidos insolúveis (polpa). O sobrenadante ficou reservado para posterior utilização na obtenção do açúcar purificado. Os tubos contendo a polpa foram completados com água destilada até a marca de 50 mL e a suspensão homogeneizada em agitador mecânico tridimensional tipo 'vortex'. Em seguida centrifugados novamente a 4500 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado. O processo de lavagem com água foi repetido até Brix zero no sobrenadante, o qual foi verificado com o uso de refratômetro de campo (Atago). Para eliminar os carotenóides que interferem nos resultados das análises isotópicas, os sólidos insolúveis foram lavados duas vezes com acetona (20 mL) e água (30 mL) e depois mais duas vezes somente com água (50mL) para completa remoção da acetona. O precipitado foi analisado isotopicamente. Foram pipetados 0,3 µL de cada amostra e colocadas em cápsulas de estanho. Em seguida as cápsulas foram colocadas no Analisador Elementar.

Obtenção do açúcar purificado

Para extrair o açúcar dos produtos, foi utilizado a metodologia proposta por Koziat *et al.* (1993) de purificação do açúcar. Ao líquido sobrenadante reservado na separação e purificação dos sólidos insolúveis foi adicionado 4g de Ca(OH)₂. A mistura foi aquecida a 90°C, sendo centrifugada para retirar os ácidos orgânicos da amostra. O líquido

sobrenadante foi vertido em um béquer de 250mL e em seguida foi adicionado H₂SO₄ (2N) para corrigir o pH para 5. Depois de aquecida novamente a 90°C e resfriada à temperatura ambiente, a amostra foi mantida a 4°C por 12h. Neste período ocorreu a formação de CaSO₄ que foi desprezado. O sobrenadante (solução açucarada) foi analisado isotopicamente. Foram pipetados 0,3 µL de cada amostra e colocadas em cápsulas de estanho. Em seguida as cápsulas foram colocadas no Analisador Elementar.

4ª Etapa – Definição do melhor parâmetro de δp para quantificar a fonte C₃ nas bebidas produzidas em laboratório.

Para determinar a quantidade de carbono de origem do ciclo fotossintético C₃ nas bebidas produzidas em laboratório foi utilizada a equação de diluição isotópica (4):

$$\delta a * C_3 + \delta b * C_4 = \delta p.$$

Em δa foram usados os valores das leituras realizadas no espectrômetro de massas dos sólidos insolúveis obtidos das bebidas (padrão interno), em δb foi utilizado o valor isotópico do açúcar utilizado na fabricação das bebidas. Já em δp , houve a possibilidade de uso dos valores isotópicos da própria bebida ou de seus açúcares purificados. Assim sendo, para cada bebida produzida a equação 4 foi utilizada duas vezes variando o parâmetro de δp . O parâmetro que mostrou resultados práticos mais próximos das quantidades teóricas de C₃ foi o escolhido para a quantificação nas bebidas comerciais.

5ª Etapa – Verificação da interferência dos aditivos alimentares nas mensurações de fonte C₃ nas bebidas a base de maracujá.

De acordo com Queiroz (2005), aditivos utilizados nas formulações de bebidas a base de frutas podem interferir na mensuração do enriquecimento isotópico relativo das mesmas. Para verificar esta influência foram produzidos néctares de maracujá com mesma concentração de sólidos solúveis a partir da mesma polpa concentrada, com e sem aditivos em cinco repetições. O mesmo foi feito para os néctares *light*. Estas bebidas foram comparadas estatisticamente através do Teste *t* com nível de significância de 5% (Vieira, 1999):

Os aditivos utilizados na fabricação dos sucos estão nas Tabelas 9 e 10. As informações sobre as quantidades de aditivos foram obtidas junto à indústria fornecedora dos mesmos.

Tabela 9. Aditivos utilizados na produção de bebidas a base de maracujá.

Aditivo	Função	Quantidade
Ácido cítrico	acidulante	0,076%
Ácido ascórbico	antioxidante	0,020%
Aroma de maracujá	aromatizante	0,032%

Tabela 10. Aditivos utilizados na produção de bebidas *light* a base de maracujá.

Aditivo	Função	Quantidade
Ácido cítrico	acidulante	0,076%
Ácido ascórbico	antioxidante	0,022%
Edulcorante (sacarina sódica + ciclamato de sódio)	adoçante	0,076%
Aroma de maracujá	aromatizante	0,035%

6ª Etapa – Concepção do limite de legalidade para as bebidas de maracujá

O limite de legalidade fornece a concentração mínima de carbono de origem do ciclo fotossintético C₃ que as bebidas a base de maracujá devem ter para estarem de acordo com os padrões de identidade e qualidade determinados pelo MAPA.

A legislação brasileira proíbe a adição de qualquer tipo de açúcar em sucos integrais de maracujá, sendo assim, seu limite de legalidade é igual a 100% de carbono de fonte C₃.

Para polpas a legislação, nada cita a respeito da adição de açúcares. Assim sendo o limite de legalidade foi considerado em 100% de carbono de fonte C₃.

Para sucos, a permissão é de até 10% (m/m) de adição de açúcar. Como o suco reconstituído de maracujá é produzido a partir de suco desidratado ou concentrado, adoçados ou não, existem duas possibilidades de limite de legalidade:

- Se o suco concentrado utilizado na fabricação não for adoçado, o limite de legalidade é de 100%;

- Se o suco concentrado for adoçado, o limite de legalidade é dado pela mensuração teórica da quantidade de fonte C₃. Foi feito balanço de massas para calcular as quantidades de água e polpa para obtenção de suco reconstituído de maracujá com °Brix final de 11,0; 11,5; 12,0; 12,5; 13,0; 13,5; 14,0; 14,5 e 15. A quantidade de açúcar foi fixada em 25g (10% de 250g de suco). A polpa considerada nos cálculos tinha concentração de 34 °Brix. Após balanço de massas foi feito o cálculo da participação das fontes C₃ e C₄ na massa total de sólidos solúveis do suco reconstituído.

Para determinação do limite de legalidade do néctar e do suco tropical também foram feitos balanços de massas. Foram calculadas as quantidades de água e açúcar para obtenção de bebidas de maracujá com °Brix final de 11,0; 11,5; 12,0; 12,5; 13,0; 13,5; 14,0; 14,5 e 15. A polpa considerada nos cálculos tinha concentração de 11 °Brix. Para o néctar, foi fixada a quantidade mínima de 10% (m/m) desta polpa e para o suco tropical 12% (m/m). Após balanço de massas foi feito o cálculo da participação das fontes C₃ e C₄ na massa total de sólidos solúveis das bebidas. Os néctares e sucos tropicais *light* tiveram seus limites de legalidade fixados em 100%, já que em seus rótulos constavam a expressão “sem adição de açúcar”.

7ª Etapa – Determinação da legalidade nas bebidas comerciais

Para determinar a legalidade das bebidas comerciais de maracujá foi calculado através da equação de diluição isotópica (4) um intervalo de valores correspondente à quantidade de fonte C₃ contida nas bebidas. Este intervalo foi obtido fixando-se um valor isotópico em δ_a (padrão interno), um valor isotópico em δ_p (da bebida comercial) e valores isotópicos máximo e mínimo em δ_b , obtidos a partir de banco de dados.

Foram feitos gráficos (°Brix vs. % fonte C₃) correspondentes a cada tipo de bebida contendo a curva do limite de legalidade. Nestes mesmos gráficos foram inseridos os intervalos de quantificação de fonte C₃ de cada amostra. Quando todo intervalo de quantificação da amostra ficou abaixo do limite de legalidade, a bebida foi considerada em desacordo com seu respectivo padrão de identidade e qualidade. Quando todo intervalo ficou acima do limite de legalidade a bebida foi considerada em conformidade com a legislação

brasileira. Se parte do intervalo ficou acima e parte abaixo do limite de legalidade a bebida foi considerada em uma faixa de incerteza não podendo ser classificada como legal ou não.

8ª Etapa – Avaliações Energéticas

A energia das bebidas comerciais foi mensurada por cálculo centesimal em triplicata e por tabelas de composição de alimentos.

Para a determinação do valor energético através da composição centesimal, foram feitas as seguintes análises:

Umidade

Método de secagem em estufa através da perda de peso da amostra aquecida a $105^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, até peso constante (BRASIL, 2005).

Proteínas

Método de Kjeldahl e conversão em proteína através do fator 6,25 (BRASIL, 2005).

Lipídeos totais

Método de extração Soxhlet (BRASIL, 2005).

Cinzas

Incineração em mufla a 550°C (BRASIL, 2005).

Carboidratos

Diferença entre 100 e a soma das porcentagens de umidade, proteínas, lipídeos totais e cinzas (BRASIL, 2005).

Em seguida, foi calculado o valor energético dos produtos utilizando os fatores de conversão para carboidratos, proteínas e lipídeos já citados anteriormente.

As porções contidas nos rótulos foram convertidas para 100g (através da densidade das bebidas) para posterior comparação com as tabelas de composição de alimentos e cálculo centesimal.

As tabelas de composição de alimentos consultadas foram Philippi, 2002 e TACO, 2006.

6 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 – Análises das matérias-primas

6.1.1 – Análises químicas das polpas de maracujá utilizadas para produção das bebidas em laboratório.

A Tabela 11 apresenta os resultados das análises químicas das polpas de maracujá. A polpa a 11 °Brix foi obtida a partir da polpa a 34 °Brix. A diluição se fez necessária, pois a legislação brasileira determina que as produções de sucos tropicais e néctares de maracujá sejam feitas a partir de polpa a 11 °Brix.

Tabela 11. Análises químicas das polpas de maracujá

Polpas concentradas				
Amostras	°Brix	pH	Acidez Titulável ¹	Ratio
600	34	3,04	8,38	4,06
601	11	3,17	2,72	4,08

6.1.2 – Análises isotópicas das matérias-primas utilizadas para produção das bebidas em laboratório.

Os resultados referentes à análise isotópica da polpa concentrada de maracujá utilizada para fabricação das bebidas em laboratório estão descritos abaixo.

Tabela 12. Enriquecimento isotópico relativo ($\delta^{13}\text{C}$) da polpa concentrada e suas frações.

Amostra	Açúcar Purificado	D.M	Sólidos Insolúveis	D.M.	Polpa Concentrada	D.M.
10	-26,82	0,17	-27,78	0,14	-26,89	0,04

O maracujazeiro é uma planta que possui o ciclo fotossintético C_3 , sendo assim a polpa concentrada de maracujá apresentou os valores esperados para o seu enriquecimento isotópico relativo ($\delta^{13}\text{C}$), para seu açúcar purificado e para seus sólidos insolúveis (entre -26 e -28). Pode-se concluir que não houve adição de açúcar de cana à polpa concentrada pelo fabricante (Tabela 12).

A polpa das frutas é constituída basicamente de água, açúcares, ácidos orgânicos e sólidos insolúveis. De acordo com Nogueira (2008), esses açúcares apresentam maior concentração de ^{13}C em relação aos sólidos insolúveis devido ao fracionamento causado pelo metabolismo da planta.

A Tabela 13 mostra o valor do enriquecimento isotópico de diferentes tipos de açúcares comerciais utilizados pela indústria alimentícia para produção de bebidas a base de frutas.

Tabela 13. Enriquecimento isotópico relativo ($\delta^{13}\text{C}$) de açúcares comerciais.

Amostra	Tipo de açúcar	Enriquecimento isotópico	D.M.
20	Cristal especial	-12,82	0,09
21	Refinado	-13,21	0,01
22	Refinado granulado	-12,90	0,03
23	Cristal	-13,15	0,04
24	Invertido	-12,94	0,01
25	Líquido	-13,52	0,18

O intervalo das mensurações do enriquecimento isotópico dos açúcares foi de -12,82 a -13,52, valores estes típicos de plantas que possuem ciclo fotossintético C_4 ,

como a cana-de-açúcar. Queiroz (2005) encontrou um intervalo mais abrangente, que variava de -12,30 a -13,57.

Os aditivos empregados na produção das bebidas também foram analisados isotopicamente e os resultados estão descritos na Tabela 14.

Tabela 14. Enriquecimento isotópico relativo ($\delta^{13}\text{C}$) dos aditivos.

Amostra	Aditivo	Enriquecimento isotópico	D.M.
30	Edulcorante	-26,28	0,08
31	Ácido ascórbico	-12,59	0,11
32	Ácido cítrico	-12,99	0,05
33	Aroma de maracujá	-28,53	0,06

O ácido ascórbico e o ácido cítrico apresentaram valores isotópicos típicos de fontes C_4 . O ácido cítrico é obtido através da fermentação da sacarose pelo *Aspergillus niger*. O ácido ascórbico é produzido através de reação de oxidação de dextroses (açúcar de milho). Fatos estes que explicam os valores de suas mensurações. Já o edulcorante utilizado revelou um valor isotópico de -26,28‰. Segundo fabricante, sua composição é de 16% de maltodextrina, 18% de sacarina sódica e 66% de ciclamato de sódio. A maltodextrina é uma mistura de dextrina e maltose obtida por hidrólise enzimática do amido de milho (C_4). A sacarina e o ciclamato são produzidos a partir de derivados do petróleo. Provavelmente os valores isotópicos da sacarina e do ciclamato são mais leves que -30‰. Quando combinados com a maltodextrina o valor resultante da mistura foi por coincidência, um sinal típico de plantas C_3 .

6.2 – Bebidas produzidas em laboratório

6.2.1 - Produção das bebidas

Através de balanço de massas (Tabela 15) foram calculadas as quantidades de água deionizada e açúcar de cana adicionados à polpa de maracujá a 11 °Brix (valor mínimo determinado pela legislação), para a produção das bebidas. As porcentagens de polpa utilizadas foram 1, 3, 5, 7, 9, 10, 11, 12, 13 e 15. As porcentagens 10 e 12 correspondem ao limite mínimo legal do néctar e suco tropical, respectivamente.

Tabela 15. Massas utilizadas para produção dos néctares e sucos tropicais convencionais

Amostra	% Polpa	Brix polpa	Massa polpa (g)	Brix açúcar	Massa açúcar (g)	Brix água	Massa água (g)	Brix bebida	Massa bebida (g)
1001	1	11	2,5	100	27,23	0	220,28	11	250
1002	3	11	7,5	100	26,68	0	215,83	11	250
1003	5	11	12,5	100	26,13	0	211,38	11	250
1004	7	11	17,5	100	25,58	0	206,93	11	250
1005	9	11	22,5	100	25,03	0	202,48	11	250
1006	10	11	25	100	24,75	0	200,25	11	250
1007	11	11	27,5	100	24,48	0	198,03	11	250
1008	12	11	30	100	24,2	0	195,8	11	250
1009	13	11	32,5	100	23,93	0	193,58	11	250
1010	15	11	37,5	100	23,38	0	189,13	11	250

Para a produção dos sucos *light* (Tabela 16) foram calculadas as quantidades de água deionizada e polpa de maracujá a 11 °Brix .A massa de edulcorante foi determinada pelo fornecedor.

Tabela 16: Massas utilizadas para produção dos néctares e sucos tropicais *light*.

Amostra	% Polpa	Brix polpa	Massa polpa	Brix bebida	Massa bebida	Massa edulcorante
1011	1	11	2,50		250	0,19
1012	3	11	7,50		250	0,19
1013	5	11	12,50		250	0,19
1014	7	11	17,50		250	0,19
1015	9	11	22,50		250	0,19
1016	10	11	25,00		250	0,19
1017	11	11	27,50		250	0,19
1018	12	11	30,00		250	0,19
1019	13	11	32,50		250	0,19
1020	15	11	37,50		250	0,19

6.2.2 – Quantificação teórica da fonte C₃

A Tabela 17 apresenta as massas de sólidos solúveis das bebidas, da polpa e do açúcar utilizado nas produções dos sucos e néctares, assim como a percentagem teórica de fonte C₃ de cada amostra.

A percentagem teórica de fonte C₃ é exatamente igual à percentagem de polpa adicionada a cada bebida, pois o °Brix da polpa utilizada nas produções é o mesmo da bebida pronta. Os valores teóricos calculados foram utilizados posteriormente para verificar a acuidade da mensuração de fonte C₃ em cada bebida.

Tabela 17. Percentagem teórica de fonte C₃ das bebidas

Amostra	Polpa (%)	Massa de sólidos solúveis das bebidas (g)	Massa de sólidos solúveis da polpa (g)	Massa de sólidos solúveis do açúcar (g)	Fonte C ₃ (%)
1001	1	27,5	0,3	27,2	1
1002	3	27,5	0,8	26,7	3
1003	5	27,5	1,4	26,1	5
1004	7	27,5	1,9	25,6	7
1005	9	27,5	2,5	25,0	9
1006	10	27,5	2,8	24,8	10
1007	11	27,5	3,0	24,5	11
1008	12	27,5	3,3	24,2	12
1009	13	27,5	3,6	23,9	13
1010	15	27,5	4,1	23,4	15

6.2.3 – Análises químicas das bebidas produzidas em laboratório

Tabela 18. Análises químicas dos néctares e sucos tropicais de maracujá fabricados em laboratório.

% de Polpa	°Brix	pH	Acidez Titulável ¹	<i>Ratio</i>
1	11	3,15	0,05	214,84
3	11	3,02	0,10	112,20
5	11	3,00	0,15	73,69
7	11	2,99	0,21	51,57
9	11	3,01	0,29	38,19
10	11	3,02	0,30	37,10
11	11	3,01	0,32	34,15
12	11	3,02	0,36	30,34
13	11	3,01	0,39	28,02
15	11	3,02	0,44	25,28

¹grama de ácido cítrico/100 mL de amostra

Os teores de sólidos solúveis das bebidas fabricadas em laboratório foram fixados em 11 °Brix, valor mínimo estipulado pela legislação brasileira. Os valores de pH variaram de 2,99 a 3,15. A acidez titulável apresentou valores crescentes de 0,05 a 0,44 % de ácido cítrico, devido ao aumento da porcentagem de polpa. Com os valores de °Brix fixos e aumento da acidez, o *ratio* revelou valores decrescentes (Tabela 18).

De acordo com o PIQ de néctar de maracujá, esta bebida deve conter no mínimo 10% (m/m) de polpa de maracujá, °Brix mínimo de 11 e acidez titulável de no mínimo 0,25g/100mL de ácido cítrico. Já o suco tropical, segundo PIQ de suco tropical de maracujá, tem de conter no mínimo 12% (m/m), °Brix mínimo de 11 e acidez titulável de no mínimo 0,27% de ácido cítrico. Observando-se as formulações referentes ao néctar e ao suco tropical, na tabela 18, verifica-se que as bebidas produzidas estão dentro dos padrões exigidos.

Tabela 19. Análises químicas dos néctares e sucos tropicais *light* de maracujá fabricados em laboratório.

% de Polpa	°Brix	pH	Acidez Titulável ¹	Ratio
1	0,2	3,07	0,04	4,96
3	0,3	3,03	0,07	4,02
5	0,6	3,05	0,14	4,40
7	0,8	3,04	0,18	4,29
9	1,1	3,06	0,25	4,41
10	1,1	3,00	0,26	4,27
11	1,2	3,01	0,27	4,47
12	1,2	3,02	0,28	4,36
13	1,4	3,03	0,32	4,38
15	1,6	3,04	0,38	4,19

¹grama de ácido cítrico/100 mL de amostra

As concentrações de sólidos solúveis das bebidas *light* fabricadas em laboratório variaram de 0,2 a 1,6 °Brix de acordo com as porcentagens crescentes de polpa. Os valores de pH variaram de 3,00 a 3,17. A acidez titulável apresentou valores crescentes de 0,04 a 0,38 g de ácido cítrico/ 100ml de bebida, também devido ao aumento da porcentagem polpa. O néctar (10%) e o suco tropical (12%) apresentaram valores de acidez titulável dentro do permitido pela legislação (BRASIL, 2000). A relação sólidos solúveis/acidez variou entre 4,02 e 4,96 (Tabela 19).

6.2.4 – Análises isotópicas das bebidas produzidas em laboratório

A Tabela 20 informa os valores do enriquecimento isotópico relativo de ¹³C dos sucos e néctares produzidos em laboratório assim como de seus padrões internos (sólidos insolúveis) e de seus açúcares purificados. Na amostra 1001 não foi possível extrair o padrão interno pela pouca quantidade de polpa.

As mensurações dos padrões internos ficaram entre -27,17 e -25,52‰ por serem sólidos insolúveis provenientes do maracujá. Os valores do enriquecimento isotópico dos açúcares purificados e dos sucos tropicais e néctares foram mais pesados (em

torno -14‰) devido à presença do açúcar de cana. Porém, entre açúcar purificado e bebida, os valores mais leves foram encontrados nas bebidas, devido à presença dos sólidos insolúveis.

Tabela 20. Enriquecimento isotópico das bebidas produzidas em laboratório e de suas frações.

Amostra	% de Polpa	Pad. Int	D.M.	Aç. purificado	D.M.	Sucos e néctares	D.M.
1001	1	*		-13,47	0,2	-13,84	0,15
1002	3	-25,52	0,16	-13,80	0,01	-13,51	0,06
1003	5	-26,16	0,19	-13,63	0,04	-13,78	0,04
1004	7	-26,73	0,04	-13,87	0,1	-14,12	0,13
1005	9	-26,63	0,12	-14,13	0,07	-14,38	0,01
1006	10	-26,89	0,03	-13,93	0,02	-14,43	0,1
1007	11	-26,88	0,09	-14,25	0,02	-14,65	0,05
1008	12	-27,16	0,13	-14,36	0,07	-14,89	0,04
1009	13	-26,94	0,09	-14,46	0,05	-15,01	0,04
1010	15	-27,17	0,12	-14,66	0,12	-15,23	0,01

*Quantidade insuficiente de polpa

O Gráfico 2 mostra claramente o decréscimo no valor de $\delta^{13}\text{C}$ das bebidas com o aumento da porcentagem da polpa de maracujá utilizada nas formulações, ou seja, a medida que se adicionou polpa, o valor do enriquecimento isotópico da bebida tendeu a se aproximar do $\delta^{13}\text{C}$ da polpa (-27) e se afastar do $\delta^{13}\text{C}$ do açúcar de cana (-13). Através da regressão linear e do coeficiente de determinação (0,99) pode-se perceber que a reta esta bem ajustada aos pontos.

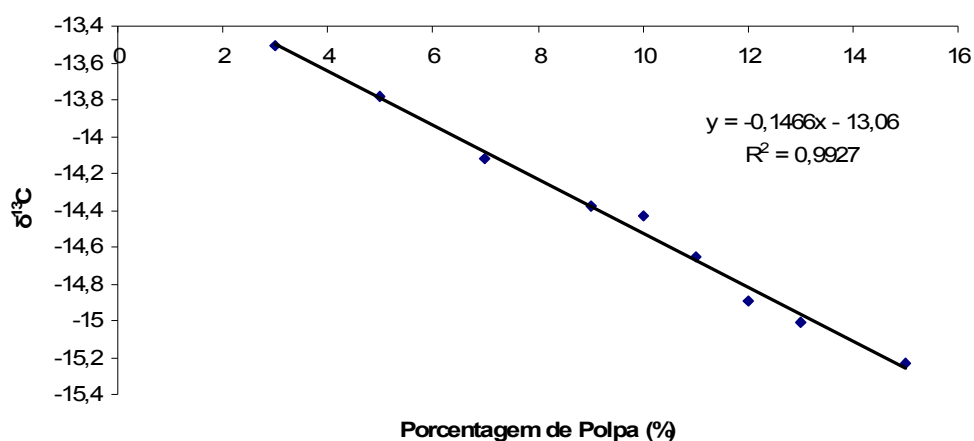


Gráfico 2. Ilustração do comportamento do sinal isotópico das bebidas com o aumento da porcentagem da polpa de maracujá para bebidas convencionais.

A Tabela 21 informa os valores do enriquecimento isotópico relativo de ^{13}C dos sucos e néctares *light* produzidos em laboratório assim como de seus padrões internos (sólidos insolúveis) e de seus açúcares purificados. Na amostra 1011 não foi possível extrair o padrão interno pela pouca quantidade de polpa.

Neste caso as mensurações do padrão interno, açúcar purificado e bebidas ficaram em torno de -26 e -27‰, valores muito aquém das mensurações da tabela 20. Este fato ocorre devido à inexistência de açúcar de cana às bebidas *light*.

Tabela 21. Enriquecimento isotópico das bebidas *light* produzidas em laboratório e de suas frações.

Amostra	% de Polpa	Pad. Int	D.M.	Aç. purificado	D.M.	Sucos e néctares	D.M.
1011	1	*	*	*	*		
1012	3	-26,94	0,04	-26,16	0,01	-26,75	0,20
1013	5	-27,31	0,12	-26,23	0,02	-26,89	0,04
1014	7	-27,17	0,05	-26,39	0,12	-26,99	0,03
1015	9	-27,23	0,10	-26,61	0,04	-27,01	0,03
1016	10	-27,44	0,09	-26,39	0,01	-26,89	0,01
1017	11	-27,56	0,13	-26,60	0,08	-27,14	0,01
1018	12	-27,36	0,05	-26,55	0,01	-27,06	0,04
1019	13	-27,43	0,01	-26,60	0,02	-27,07	0,01
1020	15	-27,53	0,05	-26,62	0,03	-27,20	0,09

O Gráfico 3 também demonstra o decréscimo no valor de $\delta^{13}\text{C}$ das bebidas com o aumento da porcentagem da polpa nas formulações. Através da regressão linear e do coeficiente de determinação (0,76) pode-se perceber que a reta esta bem ajustada aos pontos. Neste caso o coeficiente de determinação foi mais baixo que para bebidas *light*, devido, provavelmente, à presença do aditivo edulcorante que pode interferir nas mensurações ou até mesmo por erros operacionais durante a fabricação das bebidas.

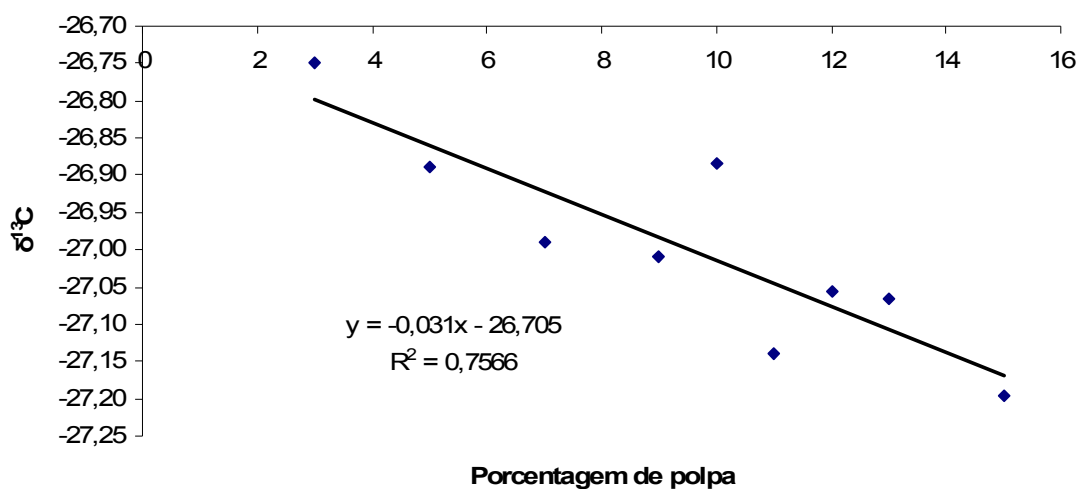


Gráfico 3. Ilustração do comportamento do sinal isotópico das bebidas com o aumento da porcentagem da polpa de maracujá para bebidas light.

6.2.5 - Definição do melhor parâmetro de δp para quantificação prática da fonte C_3

Através da equação de diluição isotópica (equação 4), dos dados contidos nas Tabelas 22 e 23 e do valor da mensuração de ^{13}C do açúcar cristal (tabela 13) foi feito cálculo da quantidade prática de carbono C_3 presente nas bebidas produzidas em laboratório.

Em δa foram usados os valores do padrão interno, em δb os valores do enriquecimento isotópico relativo do açúcar cristal (amostra 23) e em δp os valores de ^{13}C das bebidas. Posteriormente este mesmo cálculo foi feito utilizando-se em δp os valores dos açúcares purificados.

Tabela 22. Comparação entre valores teóricos (balanço de massas) e valores práticos (mensurados no espectrômetro de massas) de fonte C₃ e estimativa de erro para escolha de melhor parâmetro para δp para bebidas convencionais.

Amostra	Polpa (%)	C ₃ Teórico (%)	C ₃ Prático Suco ou néctar (%)	Erro abs. (%) ¹	C ₃ Prático Açúcares purificados (%)	Erro abs. (%) ¹
1001	1	1	*	*	*	*
1002	3	3	2,9	0,1	5,3	2,3
1003	5	5	4,8	0,2	3,7	1,3
1004	7	7	7,1	0,1	5,3	1,7
1005	9	9	9,1	0,1	7,3	1,7
1006	10	10	9,3	0,7	5,7	4,3
1007	11	11	10,9	0,1	8,0	3,0
1008	12	12	12,4	0,4	8,6	3,4
1009	13	13	13,5	0,5	9,5	3,5
1010	15	15	14,8	0,2	10,8	4,2
\bar{x}				0,3		2,8
Σ				2,3		25,4

¹ Erro absoluto = $|\% C_{3 \text{ teórico}} - \% C_{3 \text{ prático}}|$

Tabela 23. Comparação entre valores teóricos (balanço de massas) e valores práticos (mensurados no espectrômetro de massas) de fonte C₃ e estimativa de erro para escolha de melhor parâmetro para δp para bebidas *light*.

Amostra	Polpa (%)	C ₃ Teórico (%)	C ₃ Prático Suco ou néctar (%) ¹	Erro abs. (%) ¹	C ₃ Prático Açúcares purificados (%)	Erro abs. (%) ¹
1011	1	100	*	*	*	*
1012	3	100	98,6	1,4	94,3	5,7
1013	5	100	97,0	3,0	92,4	7,6
1014	7	100	98,7	1,3	94,4	5,6
1015	9	100	98,4	1,6	95,6	4,4
1016	10	100	96,1	3,9	92,7	7,3
1017	11	100	97,1	2,9	93,3	6,7
1018	12	100	97,9	2,1	94,3	5,7
1019	13	100	97,4	2,6	94,2	5,8
1020	15	100	97,7	2,3	93,6	6,4
\bar{x}				2,3		6,1
Σ				21,0		55,2

¹ Erro absoluto = $|\% C_{3 \text{ teórico}} - \% C_{3 \text{ prático}}|$

As mensurações obtidas pelo espectrômetro de massas geraram porcentagens de C₃ muito próximas das quantidades teóricas quando em δp foi utilizado o valor isotópico das bebidas. A média e o somatório do erro absoluto também foram menores neste caso. Assim o melhor parâmetro de δp para determinação da quantidade de carbono de origem C₃ em bebidas a base de maracujá é a própria bebida e não o seu açúcar purificado.

6.2.6 – Mensuração de $\delta^{13}\text{C}$ em bebidas produzidas com e sem aditivos

Foram produzidas bebidas de maracujá (com a mesma concentração de sólidos solúveis e a partir da mesma polpa) com e sem aditivos para verificar possíveis influências destes na mensuração de $\delta^{13}\text{C}$. Através do Teste *t*, com nível de significância de 5%, não foi verificada a sua influência na mensuração dos valores isotópicos para bebidas adoçadas. Porém, os aditivos interferiram significativamente no $\delta^{13}\text{C}$ das bebidas *light*. Este fato ocorre em função da proporção carbono do aditivo / carbono da bebida ser relativamente maior nas bebidas *light* quando comparada com as bebidas convencionais (Tabela 24).

Tabela 24. Mensuração de fonte C₃ em néctares de maracujá produzidos com e sem aditivos

Bebidas adoçadas			
Amostra	Aditivo	C ₃ Prático (%)	Média
1011	com	9,8	10,3 a
1012	com	11,1	
1013	com	10,2	
1014	com	10,1	
1015	com	10,4	
1016	sem	8,0	9,3 a
1017	sem	11,1	
1018	sem	7,6	
1019	sem	10,4	
1020	sem	9,2	
Bebidas <i>light</i>			
1021	com	93,0	90,0 b
1022	com	89,5	
1023	com	89,9	
1024	com	90,8	
1025	com	86,8	
1026	sem	97,1	96,4 c
1027	sem	96,0	
1028	sem	96,7	
1029	sem	94,9	
1030	sem	97,2	

6.3 – Bebidas comerciais

6.3.1 - Análises químicas das bebidas comerciais

A polpa correspondente à amostra 100, provavelmente teve adição de água durante o processamento, pois apresentou valores de sólidos solúveis e acidez titulável abaixo do mínimo exigido, não estando então, em conformidade com a legislação brasileira. Já a amostra 101 está de acordo com as normas fixadas para polpas de maracujá (Tabela 25).

Raimundo et al. (2009) avaliaram polpas de maracujá comerciais congeladas e encontraram teor de sólidos solúveis de 9,0 a 13,1 °Brix. Os valores de pH variaram de 2,67 a 3,77. Para acidez titulável, foram encontrados valores de 2,14 a 3,81% de ácido cítrico. Os valores de *ratio* ficaram entre 3,07 e 4,40. Resultados estes, compatíveis com a amostra 101.

Tabela 25. Análises químicas das polpas congeladas comerciais.

Amostras	°Brix	pH	Acidez titulável ¹	<i>Ratio</i>
Legislação (BRASIL, 2000)	≥11	>2,7 e <3,8	≥ 2,5	-
100	7,8	3,04	2,29	3,41
101	11,5	3,04	3,01	3,81

¹grama de ácido cítrico/100 mL de amostra

Os valores dos parâmetros analisados para a amostra 200 estão de acordo com a legislação e com os resultados de Pinheiro et al. (2006) e Castro et al. (2007).

A amostra 201 não está dentro da legalidade, já que apresentou valor de acidez titulável abaixo do mínimo permitido por Lei. Esta amostra pode ter sido fraudada durante o processamento, com adição de água e açúcar. Esta hipótese será confirmada através da análise isotópica. O seu alto valor de *ratio* deve-se à baixa acidez titulável encontrada (Tabela 26).

Pinheiro et al. (2006), avaliaram sucos integrais de maracujá encontrados no mercado brasileiro. Os intervalos de valores encontrados foram 12,5 a 13,3 °Brix para sólidos solúveis, 2,72 a 3,17 para pH, 2,96 a 4,02 % de ácido cítrico para acidez titulável e 3,1 a 4,4 para *ratio*.

Castro et al. (2007) também analisaram sucos de maracujá integrais. As concentrações de sólidos solúveis apresentaram variações de 10,1 a 11,5 °Brix. Os valores médios de pH encontrados foram de 2,88 a 2,94. A acidez expressa em ácido cítrico, variou de 2,89 a 3,5 %. Na relação °Brix/acidez, as amostras tiveram valor mínimo de 3,1 e máximo de 3,9.

Tabela 26. Análises químicas dos sucos integrais comerciais.

Amostras	°Brix	pH	Acidez titulável ¹	Ratio
Legislação (BRASIL, 2000)	≥11	-	≥ 2,5	-
200	11,5	2,77	3,37	3,41
201	12,1	3,09	1,62	7,5

¹grama de ácido cítrico/100 mL de amostra

Todas as amostras avaliadas de sucos reconstituídos estão em conformidade com os Padrões de Identidade e Qualidade fixados pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) (Tabela 27).

Pela legislação brasileira (BRASIL, 1994), suco reconstituído é aquele obtido pela reconstituição de suco concentrado ou desidratado, até a concentração original do suco integral, sendo obrigatório constar a origem do suco utilizado (se concentrado ou desidratado) para sua produção e opcional o uso da expressão “reconstituído”. Os rótulos das garrafas dos sucos analisados não apresentavam esta expressão, mas informavam que a diluição foi feita a partir de suco concentrado.

A legislação brasileira (BRASIL, 2000) não diferencia quimicamente pelo PIQ o suco integral do suco reconstituído. Os resultados mostrados nas Tabelas 26 e 27 mostram essa semelhança química (exceto amostra 201 suspeita de fraude).

A diferenciação legal entre polpa e suco (integral e reconstituído) se faz pelo teor de sólidos totais, uma vez que é impossível diferenciá-los pelo teor de sólidos solúveis e acidez titulável.

Tabela 27. Análises químicas dos sucos reconstituídos comerciais.

Amostras	°Brix	pH	Acidez Titulável ¹	Ratio
Legislação (BRASIL, 2000)	≥11	-	≥ 2,5	-
300	11,8	3,08	2,77	4,27
301	11,5	2,73	3,22	3,57
302	11,0	3,02	3,29	3,34
303	11,7	2,91	3,21	3,64
304	11,1	2,92	3,05	3,64

¹grama de ácido cítrico/100 mL de amostra

Todas as amostras de néctar estão em conformidade com a legislação brasileira, pois obedeceram aos valores mínimos especificados nos parâmetros avaliados (Tabela 28).

O PIQ de néctar de maracujá nada menciona a respeito de padrões para bebidas de baixa caloria, não sendo possível verificar a conformidade destas bebidas perante a legislação brasileira.

Tabela 28. Análises químicas dos néctares comerciais de maracujá.

Amostras	°Brix	pH	Acidez titulável ¹	Ratio
Legislação (BRASIL, 2000)	≥11	-	≥0,25	-
400	12,3	2,87	0,48	25,4
401	13,0	3,17	0,49	26,73
402	13,1	2,89	0,38	34,31
403	12,8	2,96	0,36	35,93
Média	12,8	2,97	0,43	30,59
Desvio Padrão	0,36	0,14	0,07	5,30
<i>Néctares light</i>				
404	3,7	3,04	0,48	7,64
405	1,8	2,99	0,56	3,23
Média	2,75	3,02	0,52	5,44
Desvio Padrão	1,34	0,04	0,06	3,12

¹grama de ácido cítrico/100 mL de amostra

Todas as amostras de suco tropical estão em conformidade com a legislação brasileira, pois obedeceram as normas fixadas pelo MAPA (Tabela 29).

O PIQ de suco tropical de maracujá nada menciona a respeito de padrões para bebidas de baixa caloria, não sendo possível verificar a conformidade destas bebidas perante a legislação brasileira.

A legislação brasileira (BRASIL, 2000), diferencia suco tropical e néctar de maracujá através da quantidade de polpa da fruta utilizada nas bebidas e pela acidez titulável. O néctar deve conter no mínimo 10% (m/m) e o suco tropical no mínimo 12% (m/m). Por este fato a acidez do suco tropical ($\geq 0,27$) deve ser mais elevada que a do néctar ($\geq 0,25$). Mesmo com esta diferenciação, após análises pôde-se observar pelas médias (Tabela 14 e Tabela 15) que suco tropical e néctar de maracujá apresentam semelhanças químicas (tabela 29).

Felipe et al. (2006) analisaram quatro marcas de sucos tropicais de maracujá encontradas no mercado de Fortaleza. Os valores médios de sólidos solúveis, pH, acidez, e *Ratio*, variaram respectivamente de 11,2 a 12,4 °Brix; 2,95 a 3,64; 0,33 a 0,62%; e 20 a 33,94. As amostras analisadas apresentaram valores próximos a estes.

Tabela 29. Análises químicas dos sucos tropicais comerciais de maracujá.

Amostras	°Brix	pH	Acidez titulável ¹	<i>Ratio</i>
Legislação (BRASIL, 2000)	≥ 11	-	$\geq 0,27$	-
500	11,7	3,00	0,44	26,88
501	12,6	2,91	0,52	24,31
502	12,8	2,94	0,49	26,25
503	12,2	2,94	0,55	22,00
504	12,1	3,01	0,41	29,24
505	11,7	3,28	0,38	31,16
506	12,2	3,34	0,43	28,17
507	12,6	3,03	0,63	20,04
508	12,2	2,97	0,45	27,24
509	11,8	2,82	0,55	21,27
Média	12,18	3,02	0,49	25,66
Desvio Padrão	0,38	0,16	0,08	3,65
Sucos tropicais <i>light</i>				
510	2	3,01	0,41	4,91
511	2	3,01	0,51	3,94
Média	2	3,01	0,46	4,43
Desvio Padrão	0	0	0,07	0,69

¹grama de ácido cítrico/100 mL de amostra

6.3.2 – Concepção do limite de legalidade para néctares de maracujá

As Tabelas 30 e 31 mostram as quantidades de água e açúcar obtidos no balanço de massas para obtenção de néctares e sucos tropicais de maracujá a 11; 11,5; 12; 12,5; 13; 13,5; 14; 14,5 e 15 °Brix. Estes dados foram utilizados para criação do limite de legalidade que fornece a porcentagem mínima de carbono de origem C₃ que as bebidas de maracujá devem conter.

Tabela 30. Balanço de massa utilizado para criação do limite de legalidade de néctares de maracujá.

Amostra	Polpa			Água		Açúcar		Néctar	
	%	°Brix	Quantidade (g)	°Brix	Quantidade (g)	°Brix	Quantidade (g)	°Brix	Quantidade (g)
1031	10	11	25	0	200,25	100	24,75	11,0	250
1032	10	11	25	0	199,00	100	26,00	11,5	250
1033	10	11	25	0	197,75	100	27,25	12,0	250
1034	10	11	25	0	196,50	100	28,50	12,5	250
1035	10	11	25	0	195,25	100	29,75	13,0	250
1036	10	11	25	0	194,00	100	31,00	13,5	250
1037	10	11	25	0	192,75	100	32,25	14,0	250
1038	10	11	25	0	191,50	100	33,50	14,5	250
1039	10	11	25	0	190,25	100	34,75	15,0	250

Tabela 31. Balanço de massa utilizado para criação do limite de legalidade de sucos tropicais de maracujá.

Amostra	Polpa			Água		Açúcar		Suco Tropical	
	%	°Brix	Quantidade (g)	°Brix	Quantidade (g)	°Brix	Quantidade (g)	°Brix	Quantidade (g)
1040	12	11	30	0	195,80	100	24,20	11,0	250
1041	12	11	30	0	194,55	100	25,45	11,5	250
1042	12	11	30	0	193,30	100	26,70	12,0	250
1043	12	11	30	0	192,05	100	27,95	12,5	250
1044	12	11	30	0	190,80	100	29,20	13,0	250
1045	12	11	30	0	189,55	100	30,45	13,5	250
1046	12	11	30	0	188,30	100	31,70	14,0	250
1047	12	11	30	0	187,05	100	32,95	14,5	250
1048	12	11	30	0	185,80	100	34,20	15,0	250

A legislação brasileira permite a adição de açúcares em sucos de frutas na proporção máxima de 10% (m/m). As Tabelas 32, 33 e 34 apresentam os balanços de massas utilizados para criação do limite de legalidade dos sucos reconstituídos de maracujá. Foram calculadas as quantidades de água e polpa para obtenção de suco reconstituído de maracujá com °Brix final de 11,0; 11,5; 12,0; 12,5; 13,0; 13,5; 14,0; 14,5 e 15.

Tabela 32. Balanço de massa utilizado para criação do limite de legalidade de sucos reconstituídos de maracujá.

Amostra	Suco integral			Açúcar		Suco integral adoçado	
	°Brix	g	%	g	°Brix	°Brix	g
1049	11,0	90	10	10	100	19,90	100
1050	11,5	90	10	10	100	20,35	100
1051	12,0	90	10	10	100	20,80	100
1052	12,5	90	10	10	100	21,25	100
1053	13,0	90	10	10	100	21,70	100
1054	13,5	90	10	10	100	22,15	100
1055	14,0	90	10	10	100	22,60	100
1056	14,5	90	10	10	100	23,05	100
1057	15,0	90	10	10	100	23,50	100

Tabela 33. Balanço de massa utilizado para criação do limite de legalidade de sucos reconstituídos de maracujá.

Amostra	Suco integral adoçado		(-) Água		Suco concentrado adoçado	
	°Brix	g	°Brix	g	°Brix	G
1049	19,90	170,85	0	70,85	34,0	100
1050	20,35	167,08	0	67,08	34,0	100
1051	20,80	163,46	0	63,46	34,0	100
1052	21,25	160,00	0	60,00	34,0	100
1053	21,70	156,68	0	56,68	34,0	100
1054	22,15	153,50	0	53,50	34,0	100
1055	22,60	150,44	0	50,44	34,0	100
1056	23,05	147,51	0	47,51	34,0	100
1057	23,50	144,68	0	44,68	34,0	100

Tabela 34. Balanço de massa utilizado para criação do limite de legalidade de sucos reconstituídos de maracujá.

Amostra	Suco concentrado adoçado		(+) Água		Suco reconstituído	
	⁰ Brix	g	⁰ Brix	g	⁰ Brix	G
1049	34	80,88	0	169,12	11,0	250
1050	34	84,56	0	165,44	11,5	250
1051	34	88,24	0	161,76	12,0	250
1052	34	91,91	0	158,09	12,5	250
1053	34	95,59	0	154,41	13,0	250
1054	34	99,26	0	150,74	13,5	250
1055	34	102,94	0	147,06	14,0	250
1056	34	106,62	0	143,38	14,5	250
1057	34	110,29	0	139,71	15,0	250

As Tabelas 35 e 36 apresentam as massas de sólidos solúveis dos sucos tropicais e néctares, da polpa e do açúcar de cada amostra. Como as quantidades da bebida (250g) e de polpa a 11 °Brix (25 e 30g, para néctar e suco tropical respectivamente) foram fixas, para o aumento da concentração dos sólidos solúveis das bebidas foi necessário o aumento da quantidade de açúcar de cana. Assim sendo, com o aumento do °Brix das bebidas, a porcentagem de C₃ relativa ao total de carbono (C₃ + C₄) diminuiu.

Ainda nessas tabelas estão descritos os valores do limite de legalidade para os néctares e sucos tropicais de maracujá. Produtos comerciais que tiveram porcentagem de fonte C₃ acima ou igual ao limite de legalidade foram considerados de acordo com a legislação brasileira. Para as bebidas *light* o limite de legalidade é de 100%, já que todas continham em seus rótulos a expressão “sem adição de açúcar”.

Tabela 35. Massas de sólidos solúveis dos néctares, da polpa e do açúcar e porcentagem teórica de fonte C₃.

Amostra	^o Brix do néctar	Massa de sólidos solúveis do néctar (g)	Massa de sólidos solúveis da polpa (g)	Massa de sólidos solúveis do açúcar (g)	Fonte C ₃ (%) Limite de legalidade
1031	11,0	27,50	2,75	24,75	10,0
1032	11,5	28,75	2,75	26,00	9,6
1033	12,0	30,00	2,75	27,25	9,2
1034	12,5	31,25	2,75	28,50	8,8
1035	13,0	32,50	2,75	29,75	8,5
1036	13,5	33,75	2,75	31,00	8,1
1037	14,0	35,00	2,75	32,25	7,9
1038	14,5	36,25	2,75	33,50	7,6
1039	15,0	37,50	2,75	34,75	7,3

Tabela 36. Massas de sólidos solúveis dos sucos tropicais, da polpa e do açúcar e porcentagem teórica de fonte C₃

Amostra	^o Brix do suco tropical	Massa de sólidos solúveis do suco tropical (g)	Massa de sólidos solúveis da polpa (g)	Massa de sólidos solúveis do açúcar (g)	Fonte C ₃ (%) Limite de legalidade
1040	11,0	27,50	3,3	24,20	12,0
1041	11,5	28,75	3,3	25,45	11,5
1042	12,0	30,00	3,3	26,70	11,0
1043	12,5	31,25	3,3	27,95	10,6
1044	13,0	32,50	3,3	29,20	10,2
1045	13,5	33,75	3,3	30,45	9,8
1046	14,0	35,00	3,3	31,70	9,4
1047	14,5	36,25	3,3	32,95	9,1
1048	15,0	37,50	3,3	34,20	8,8

A Tabela 37 apresenta a massa de sólidos solúveis totais dos sucos reconstituídos, da polpa e do açúcar de cada amostra. Neste caso, as massas da bebida (250g) e de açúcar (25g) foram fixas, portanto para o aumento da concentração dos sólidos solúveis das bebidas foi necessário o aumento da quantidade de polpa de maracujá. Assim sendo com o aumento do ^oBrix das bebidas, a porcentagem de C₃ relativa ao total de carbono aumentou.

Tabela 37. Massas de sólidos solúveis dos sucos reconstituídos, da polpa e do açúcar e porcentagem teórica de fonte C₃.

Amostra	Massa de sólidos solúveis do suco reconstituído (g)	Massa de sólidos solúveis da polpa (g)	Massa de sólidos solúveis do açúcar (g)	Fonte C ₃ (%)
1049	19,90	9,9	10,00	49,75
1050	20,35	10,4	10,00	50,86
1051	20,80	10,8	10,00	51,92
1052	21,25	11,3	10,00	52,94
1053	21,70	11,7	10,00	53,92
1054	22,15	12,2	10,00	54,85
1055	22,60	12,6	10,00	55,75
1056	23,05	13,1	10,00	56,62
1057	23,50	13,5	10,00	57,45

6.3.3 - Análise isotópica e determinação da legalidade em bebidas comerciais de maracujá

A Tabela 38 apresenta os valores das análises isotópicas das polpas de maracujá [sólidos insolúveis (padrão interno), açúcar de cana (valores máximo e mínimo), polpa] que foram utilizados para elaboração do gráfico de determinação da legalidade.

Tabela 38. Quantificação de C₃ em amostras de polpas congeladas comerciais.

Amostra	°Brix	Pad.int. (δa)	Açúcar (δb) min.	Açúcar (δb) max.	Polpa (δp)	C ₃ prático (%) min.	C ₃ prático (%) max.
100	7,8	-27,08	-13,52	-12,82	-25,89	91,2	91,7
101	11,5	-30,07	-13,52	-12,82	-27,3	83,3	83,9

A legislação brasileira nada cita a respeito da adição de açúcares em polpas de frutas, ao contrário do que acontece para os sucos [10% (m/m)]. Sendo assim, o limite de legalidade da polpa de maracujá foi considerado em 100% de carbono C₃.

Através do Gráfico 4, fica fácil perceber que as duas amostras analisadas não estão em conformidade com a legislação brasileira de polpa de maracujá. A amostra 100 além de ter revelado uma baixa quantidade de fonte C₃, apresentou teor de sólidos

solúveis abaixo do mínimo exigido. A amostra 101, pelas análises químicas seria considerada dentro dos limites fixados.

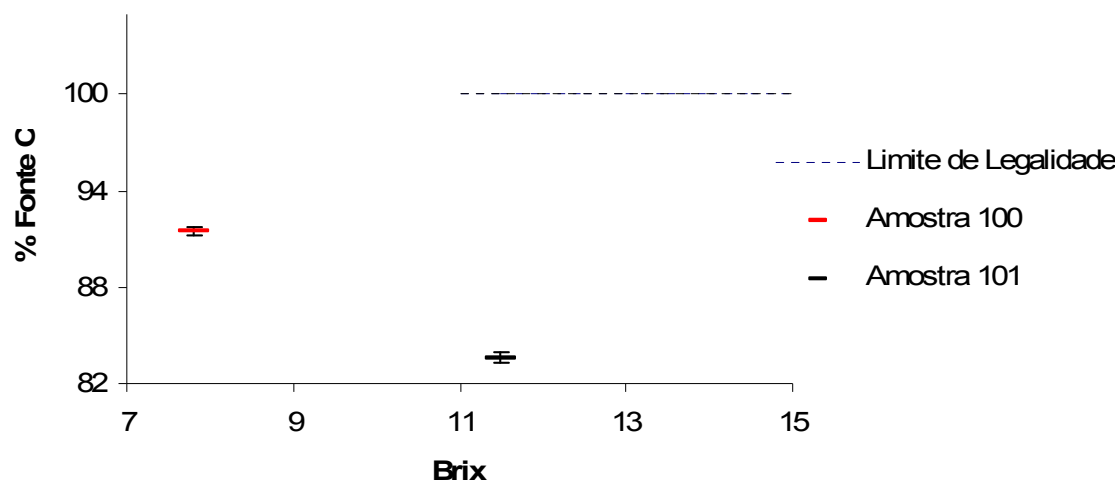


Gráfico 4 . Relação entre a quantidade de fonte C₃ e o °Brix para classificação da legalidade de polpas de maracujá.

A Tabela 39 mostra os valores isotópicos de duas amostras de sucos integrais de maracujá. As amostras 200 e 201 apresentaram valores de -21,83 e -19,82‰ respectivamente, estando, portanto, fora das especificações legais.

Tabela 39. Quantificação de C₃ em amostras de sucos integrais comerciais.

Amostra	°Brix	Pad.int. (δa)	Açúcar (δb) min.	Açúcar (δb) max.	Suco (δp)	C ₃ prático (%) min.	C ₃ prático (%) max.
200	11,5	-28,93	-13,52	-12,82	-21,83	53,9	55,9
201	12,1	-27,9	-13,52	-12,82	-19,82	43,8	46,4

Para sucos integrais a legislação brasileira é bem clara quanto à proibição da adição de açúcares, sendo o limite de legalidade igual a 100% de carbono C₃. As duas amostras de suco integral de maracujá analisadas apresentaram em média 54,9 e 45,1% de carbono de origem C₃, indicando a presença de açúcar de cana (Gráfico 5).

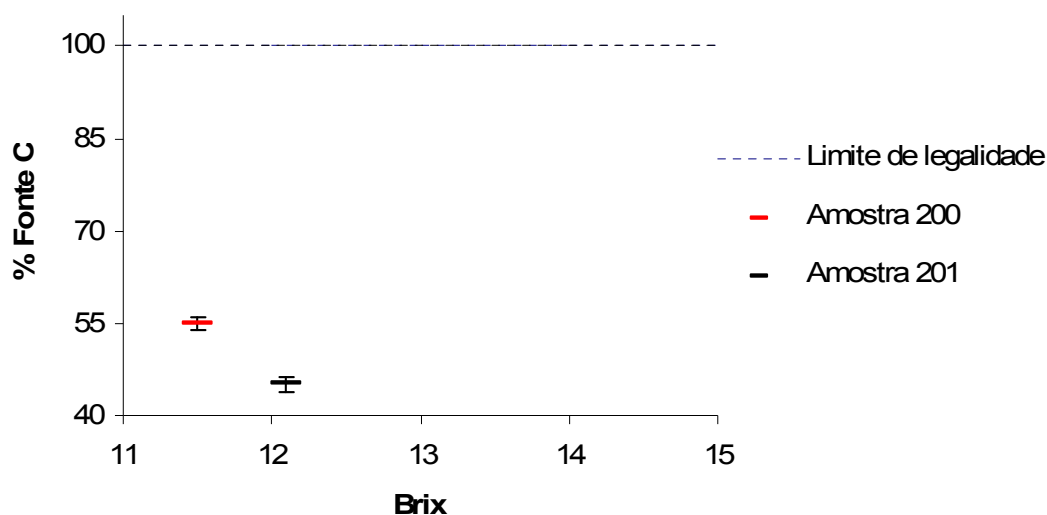


Gráfico 5 . Relação entre a quantidade de fonte C₃ e o °Brix para classificação da legalidade de sucos integrais de maracujá.

A Tabela 40 apresenta os valores isotópicos dos sucos comerciais reconstituídos de maracujá. Das cinco amostras analisadas, uma (301), apresentou valor isotópico mais pesado (-19,61%), revelando maior proporção de açúcar adicionado que as demais.

Tabela 40. Quantificação de C₃ em amostras de sucos comerciais reconstituídos.

Amostra	°Brix	Pad.int. (δA)	Açúcar (δB) min.	Açúcar (δB) max.	Bebida (δP)	C ₃ prático (%) min.	C ₃ prático (%) max.
300	11,8	-28,73	-13,52	-12,82	-24,35	71,2	72,5
301	11,5	-28,19	-13,52	-12,82	-19,61	41,5	44,2
302	11,0	-28,42	-13,52	-12,82	-26,91	89,9	90,3
303	11,7	-27,62	-13,52	-12,82	-23,87	73,4	74,7
304	11,1	-28,13	-13,52	-12,82	-24,95	78,2	79,2

Julgando-se que as indústrias utilizaram suco concentrado adoçado na fabricação dos sucos reconstituídos, apenas a amostra 301 ficou abaixo do limite de legalidade, todas as outras marcas tiveram a quantificação de fonte C₃ acima do mínimo exigido, estando, portanto, em conformidade com os padrões do MAPA (Gráfico 6).

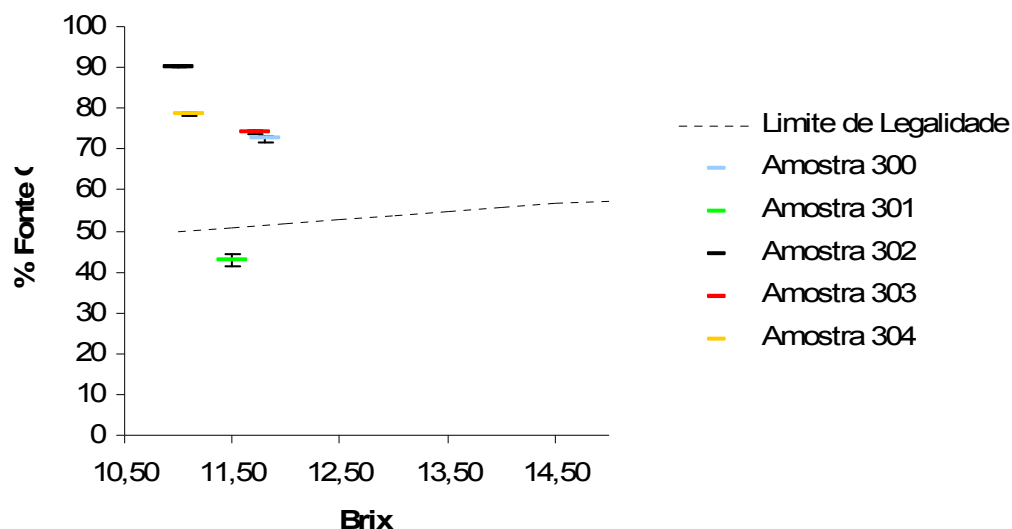


Gráfico 6. Relação entre a quantidade de fonte C₃ e o °Brix para classificação da legalidade de sucos reconstituídos de maracujá fabricados a partir de suco concentrado adoçado.

A Tabela 41 apresenta os valores das análises isotópicas realizadas nas amostras de néctares comerciais de maracujá. Todas as marcas revelaram valores isotópicos das bebidas típicos de fontes C₄, revelando a presença de maior proporção de açúcar de cana que de açúcares naturais do maracujá.

Tabela 41. Quantificação de C₃ em amostras de néctares comerciais

Amostra	°Brix	Néctar - δP (Néctar)						
		Pad.int. (δA)	Açúcar (δB)min.	Açúcar (δB) max.	Bebida (δP)	C 3 prático (% min.)	C 3 prático (% max.)	C 3 teórico (%)
400	12,3	-25,06	-13,52	-12,82	-14,98	12,7	17,6	10,0
401	13,0	-27,31	-13,52	-12,82	-14,66	8,3	12,7	10,0
402	13,1	-28,24	-13,52	-12,82	-14,22	4,8	9,1	10,0
403	12,8	-27,94	-13,52	-12,82	-14,85	9,2	13,4	10,0
Néctar light - δP (Néctar)								
404	3,7	-28,42	-13,52	-12,82	-19,48	40	42,7	100
405	1,8	-28,25	-13,52	-12,82	-26,58	88,7	89,2	100

Pelo Gráfico 7, que relaciona a porcentagem de fonte C₃ com °Brix. Observa-se que as amostras 401 e 402 se encontram na faixa de incerteza quanto à legalidade.

As amostras 400 e 403 estão em conformidade com os padrões exigidos pela legislação brasileira.

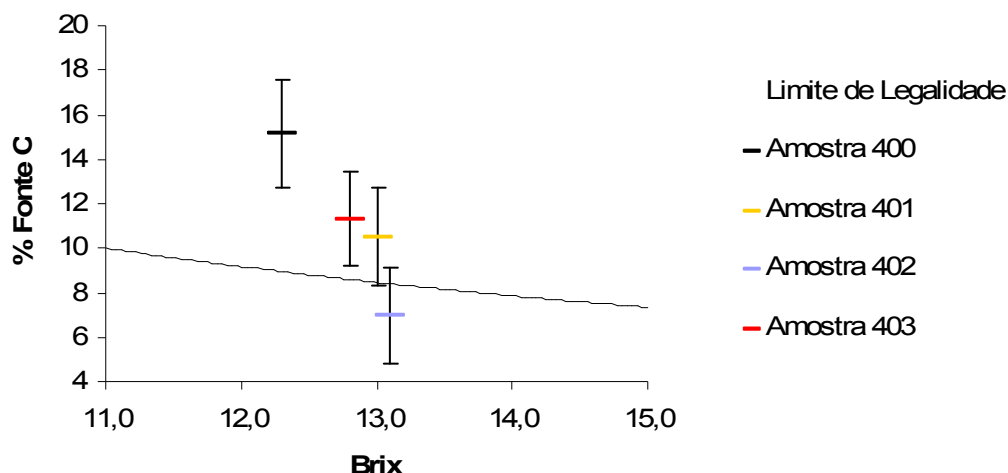


Gráfico 7. Relação entre a quantidade de fonte C₃ e o °Brix para classificação da legalidade de néctares de maracujá.

Quanto aos néctares *light*, o limite de legalidade é de 100% de carbono C₃, já que seus rótulos apresentavam a expressão “sem adição de açúcar”. Porém, como visto na tabela 25, os aditivos interferem na mensuração de fonte C₃ das bebidas *light* reduzindo esse limite em torno de 7 a 14%. O Gráfico 8, além de apresentar o limite de legalidade teórico (100%), também mostra o intervalo prático de quantificação de fonte C₃ (86 a 93%) para bebidas *light* com aditivos. A amostra 405 ficou dentro deste intervalo e foi considerada em conformidade com a legislação. Já a amostra 404 ficou muito aquém dos 86% mínimos, indicando adição de açúcar de cana, estando, portanto, em desacordo com a informação dada ao consumidor.

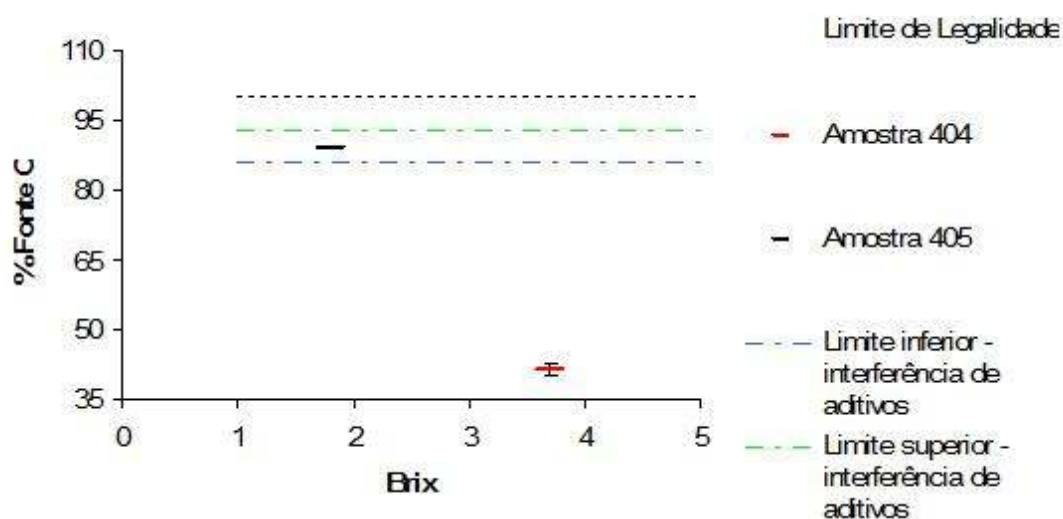


Gráfico 8. Relação entre a quantidade de fonte C₃ e o °Brix para classificação da legalidade de néctares *light* de maracujá.

Todas as amostras de sucos tropicais analisadas também tiveram valores isotópicos próximos aos valores do açúcar de cana, revelando maior proporção de açúcar adicionado que de açúcares naturais do maracujá.

Os dados utilizados para confecção do gráfico de determinação da legalidade dos sucos tropicais estão na Tabela 42.

Tabela 42. Quantificação de C₃ em amostras de sucos tropicais comerciais.

Suco tropical comercial - δP (Suco tropical)								
Amostra	°Brix	Pad.int. (δA)	Açúcar (δB)min.	Açúcar (δB) max.	Bebida (δP)	C 3 prático (% min.)	C 3 prático (%max.)	C 3 teórico (%)
500	11,7	-26,87	-13,52	-12,82	-15,42	18,5	14,2	12,0
501	12,6	-26,81	-13,52	-12,82	-15,06	16,0	11,6	12,0
502	12,8	-26,96	-13,52	-12,82	-14,91	14,8	10,3	12,0
503	12,2	-26,55	-13,52	-12,82	-14,47	12,0	7,3	12,0
504	12,1	-26,82	-13,52	-12,82	-14,55	12,4	7,7	12,0
505	11,7	-27,51	-13,52	-12,82	-13,7	6,0	1,3	12,0
506	12,2	-26,98	-13,52	-12,82	-15,31	17,6	13,3	12,0
507	12,6	-28,74	-13,52	-12,82	-15,65	17,8	14,0	12,0
508	12,2	-27,97	-13,52	-12,82	-14,78	12,9	8,7	12,0
509	11,8	-27,16	-13,52	-12,82	-14,11	9,0	4,3	12,0
Suco tropical lighth comercial - δP (Suco tropical)								
510	2,0	-27,94	-13,52	-12,82	-24,59	77,8	76,8	100
511	2,0	-27,69	-13,52	-12,82	-25,07	82,4	81,5	100

O Gráfico 9 mostra que as amostras 505 e 509 estão em desacordo com a legislação brasileira. Houve nestes casos a adição de açúcar de cana em quantidade superior ao permitido. Na faixa de incerteza ficaram as amostras 503, 504 e 508. As amostras 500, 501, 502, 506 e 507 foram consideradas legais perante o MAPA.

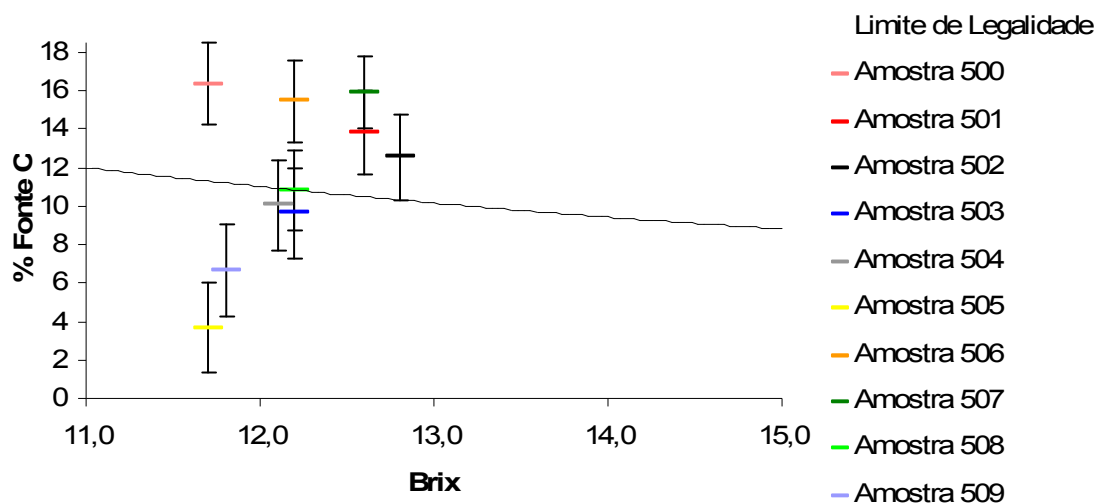


Gráfico 9. Relação entre a quantidade de fonte C₃ e o °Brix para classificação da legalidade de sucos tropicais de maracujá.

Para os sucos tropicais *light*, também houve a necessidade da utilização do intervalo prático de quantificação de fonte C₃, como feito para os néctares *light*.

O Gráfico 10 apresenta portanto, o limite de legalidade teórico (100%) e o intervalo prático de quantificação de fonte C₃ (86 a 93%) para os sucos tropicais *light* com aditivos. Os sucos referentes às amostras 510 e 511 não estão em conformidade com seus padrões de identidade e qualidade.

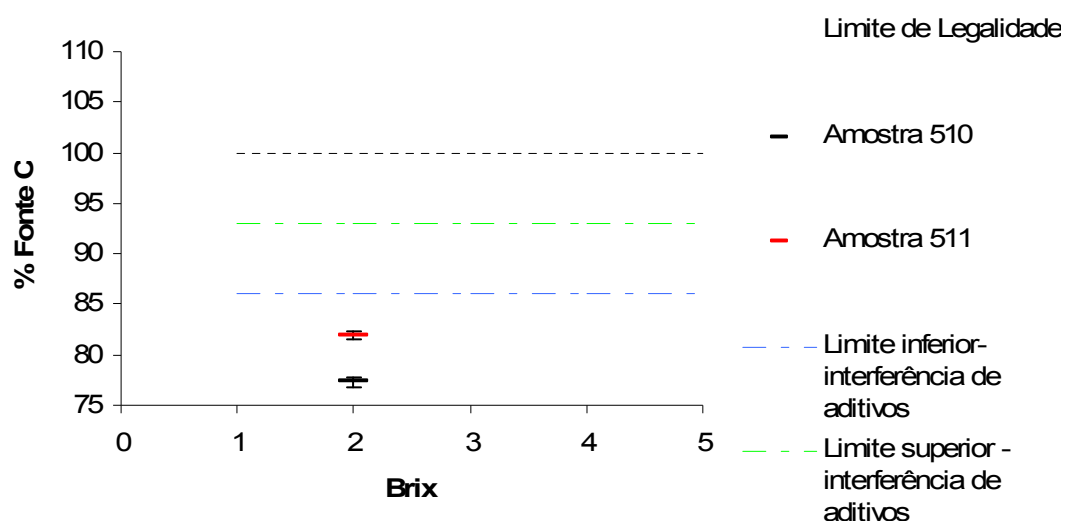


Gráfico 10. Relação entre a quantidade de fonte C₃ e o °Brix para classificação da legalidade de sucos tropicais *light* de maracujá.

6.3.4 - Análises energéticas

Os resultados obtidos nas análises para determinação da composição centesimal das bebidas não alcoólicas a base de maracujá estão descritos na Tabela 43.

Sucos integrais e reconstituídos tiveram valores próximos em todos os parâmetros analisados. As exceções foram a amostra 300 que apresentou baixo teor de proteínas e a amostra 303 com teor de cinzas inferior às demais (Tabela 43). Brito (2004), encontrou resultados semelhantes para umidade (84,90%), cinzas (0,50%), proteínas (0,70%), lipídeos (0,20%) e carboidratos (13,70%). O mesmo comportamento ocorreu para os resultados encontrados por Nagy (1993) citado por Cabral et al. (2005), umidade (84,21), proteína (0,67%), lipídeo (0,18%). As variações da composição centesimal podem ser influenciadas, principalmente, por fatores ambientais e condições de cultivo (CABRAL et al., 2005).

Todos os néctares tradicionais apresentaram composição centesimal semelhante. Os néctares *light* tiveram uniformidade de resultados em umidade, cinzas e proteínas. Lipídeos e carboidratos tiveram desvios-padrões elevados em relação à média (Tabela 43). Não foi encontrado na literatura artigo que relate a composição centesimal de néctares de maracujá para confrontá-los com os resultados da Tabela 43.

Comparando néctares tradicionais com sua versão *light*, a diferença de teor de umidade e carboidratos esta relacionada à presença de açúcar na versão tradicional. Este fato reduz os teores de umidade e eleva a porcentagem de carboidratos. Nos néctares *light* o conteúdo de açúcares é inteiramente substituído por edulcorantes hipocalóricos ou não-calóricos, naturais ou artificiais (BRASIL, 2009).

Para os sucos tropicais tradicionais e *light* todos os resultados foram homogêneos com exceção das amostras 502 e 511. A amostra 502 apresentou alto teor de cinzas em comparação com a média e a amostra 511 teve resultado nulo para proteínas (Tabela 43).

Utilizando dos dados da tabela 43 foi calculado o valor energético das bebidas não alcoólicas a base de maracujá (Tabela 44).

Comparando os resultados obtidos através do cálculo centesimal com os consultados na Tabela de Composição de Alimentos e Bebidas (PHILIPPI, 2002; TACO, 2006), as amostras de suco integral e suco reconstituído tiveram resultados semelhantes. Quando se compara os dados do rótulo com os da Tabela de Composição, todas as amostras apresentam valores superestimados (Tabela 44).

Para suco tropical de maracujá os resultados mensurados pelo cálculo centesimal foram subestimados em relação aos resultados informados na Tabela de Composição de Alimentos e Bebidas. Esta observação também ocorre quando se compara os resultados energéticos do rótulo com os resultados da Tabela (Tabela 44). De acordo com Philippi et al. (1995), o valor energético informado no rótulo, geralmente, é obtido em tabelas de composição de alimentos. Porém, na embalagem destes sucos, não foi encontrado nenhuma informação a respeito do método utilizado para se estimar o valor calórico ou qual tabela de composição de alimentos o valor energético foi consultado. Queiroz (2005) cita que muitos autores condenam a determinação das informações nutricionais através de tabelas de composição de alimentos. Segundo Pedrosa et al. (1994), as tabelas não consideram que as matérias-primas podem variar ao longo do ano o que influencia no cálculo energético.

Tabela 43. Composição centesimal das bebidas não alcoólicas a base de maracujá.

Nº	Amostra	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteínas (%)	Lipídeos (%)	Carboidratos (%)
200	S. Integral	89,49	0,43	0,73	0,12	9,23
201	S. Integral	89,17	0,33	0,60	0,11	9,80
Média		89,33	0,38	0,67	0,12	9,52
Desvio-padrão		0,23	0,07	0,09	0,01	0,40
300	S. Reconstituído	89,60	0,47	0,21	0,08	9,64
301	S. Reconstituído	89,71	0,30	0,54	0,11	9,34
302	S. Reconstituído	89,27	0,48	1,18	0,16	8,91
303	S. Reconstituído	89,32	0,16	0,96	0,08	9,48
304	S. Reconstituído	90,06	0,47	0,82	0,10	8,55
Média		89,59	0,38	0,74	0,11	9,18
Desvio-padrão		0,32	0,14	0,38	0,03	0,45
400	Néctar	87,09	0,05	0,21	0,31	12,34
401	Néctar	86,01	0,09	0,24	0,31	13,35
402	Néctar	86,26	0,05	0,18	0,30	13,21
403	Néctar	87,60	0,05	0,21	0,29	11,85
Média		86,74	0,06	0,21	0,30	12,69
Desvio-padrão		0,74	0,02	0,02	0,01	0,72
404	Néctar <i>Light</i>	96,55	0,09	0,20	0,14	3,02
405	Néctar <i>Light</i>	98,40	0,10	0,24	0,03	1,23
Média		97,48	0,10	0,22	0,09	2,13
Desvio-padrão		1,31	0,01	0,03	0,08	1,27
500	S. Tropical	87,72	0,06	0,23	0,22	11,77
501	S. Tropical	86,77	0,08	0,30	0,26	12,59
502	S. Tropical	86,84	0,34	0,18	0,16	12,48
503	S. Tropical	87,50	0,06	0,17	0,16	12,11
504	S. Tropical	87,30	0,06	0,24	0,15	12,25
505	S. Tropical	88,17	0,05	0,19	0,10	11,49
506	S. Tropical	87,63	0,10	0,22	0,11	11,94
507	S. Tropical	87,41	0,11	0,34	0,22	11,92
508	S. Tropical	87,35	0,05	0,26	0,19	12,15
509	S. Tropical	87,62	0,05	0,13	0,20	12,00
Média		87,43	0,10	0,23	0,18	12,07
Desvio-padrão		0,41	0,09	0,06	0,05	0,32
510	S. Tropical <i>Light</i>	98,14	0,05	0,26	0,17	1,38
511	S. Tropical <i>Light</i>	98,28	0,08	0,22	0,00	1,42
Média		98,21	0,07	0,24	0,09	1,40
Desvio-padrão		0,10	0,02	0,03	0,12	0,03

Tabela 44. Comparação entre o valor energético fornecido no rótulo das bebidas não alcoólicas a base de maracujá e os valores estimados do cálculo centesimal e tabela de composição de alimentos e bebidas.

Nº	Amostra	Valores Referentes à Kcal/100g				
		Limite (-20%)	Rótulo	Limite (+20%)	Cálculo Centesimal	Tabela ¹
200	S. Integral	45,18	56,48	67,77	40,9	39
201	S. Integral	38,14	47,67	57,21	42,6	39
300	S. Reconstituído	52,07	65,09	78,11	40,1	42
301	S. Reconstituído	41,71	52,13	62,56	40,5	42
302	S. Reconstituído	52,24	65,30	78,36	41,8	42
303	S. Reconstituído	52,09	65,11	78,14	42,5	42
304	S. Reconstituído	45,25	56,57	67,88	38,4	42
400	Néctar	39,63	49,54	59,45	52,99	*
401	Néctar	32,68	40,85	49,02	57,15	*
402	Néctar	41,78	52,23	62,68	56,26	*
403	Néctar	36,51	45,64	54,77	50,85	*
404	Néctar <i>Light</i>	9,46	11,83	14,19	14,14	*
405	Néctar <i>Light</i>	8,34	10,43	12,51	6,15	*
500	S. Tropical	31,71	39,63	47,56	49,98	63,95
501	S. Tropical	36,54	45,68	54,81	53,90	63,95
502	S. Tropical	38,03	47,54	57,05	52,08	63,95
503	S. Tropical	38,12	47,65	57,19	50,56	63,95
504	S. Tropical	40,81	51,01	61,21	51,31	63,95
505	S. Tropical	40,49	50,62	60,74	47,62	63,95
506	S. Tropical	33,17	41,46	49,75	49,63	63,95
507	S. Tropical	38,44	48,05	57,66	51,02	63,95
508	S. Tropical	37,36	46,70	56,04	51,35	63,95
509	S. Tropical	38,19	47,73	57,28	50,32	63,95
510	S. Tropical <i>Light</i>	6,35	7,94	9,53	8,09	*
511	S. Tropical <i>Light</i>	5,56	6,95	8,33	6,56	*

¹PHILIPPI (2002), TACO (2006)

*Informação não encontrada em Tabelas de Composição de Alimentos e Bebidas

Tannus et al. (2001) sugere que a abordagem mais adequada para se obter o valor energético de alimentos é a calorimetria direta, a qual permite a determinação precisa do conteúdo energético, por meio da combustão completa do alimento.

Conforme determinado pela ANVISA (BRASIL, 2003b), para bebidas de maracujá são considerados fora dos padrões de qualidade os valores dos rótulos que não estiverem dentro do intervalo de tolerância de $\pm 20\%$. Dessa forma, comparando os valores energéticos do cálculo centesimal, com os valores mencionados no rótulo das bebidas de maracujá comerciais, foi possível concluir que as amostras 200, 300, 301, 302, 303, 304, 401, 405 e 500 não respeitaram o intervalo de tolerância. Todas as demais estão em acordo com as normas da ANVISA (Tabela 44).

7 – CONCLUSÕES

A aplicação da razão isotópica do carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) foi eficaz para detecção de adulteração em bebidas a base de maracujá.

Para obtenção de melhores resultados nas quantificações de fonte C_3 dos sucos e néctares, deve-se utilizar o valor isotópico (δp) da própria bebida e não do açúcar purificado.

Os aditivos alimentares utilizados nas produções das bebidas influenciam na quantificação de carbono C_3 das bebidas *light*.

Somente as análises químicas usuais não são suficientes para determinar a legalidade dos sucos e néctares de maracujá presentes no mercado brasileiro. Através da análise isotópica foi possível perceber que grande parte destas bebidas encontra-se em desacordo com seus respectivos padrões de identidade e qualidade.

De maneira geral, os valores energéticos dos produtos comerciais, avaliados foram coincidentes com os informados em seus rótulos.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL 2007: Anuário Estatístico da Agricultura Brasileira. São Paulo, 2007. 516 p.

AGRIANUAL 2009: Anuário Estatístico da Agricultura Brasileira. São Paulo, 2009. 497p.

BARRIE, A.; PROSSER, S. Automated analysis of light element stable isotopes by isotope ratio mass spectrometry. In: BOUTTON, T. W.; YAMASAKI, S. **Mass spectrometry of soils**. New York: Marcel Dekker, 1996. chap. 1, p. 1-46.

BOUTTON, T. W. Stable carbon isotope ratios of natural materials: I. Sample preparation and mass spectrometric analysis. In: COLEMAN, D. C.; FRY, B. **Carbon isotope techniques**. San Diego: Academic Press, cap.10, p.155-171, 1991.

BOUTTON, T. W. Stable carbon isotope ratios of soil organic matter and their use as indicators of vegetation and climate change. In: BOUTTON, T. W.; YAMASAKI, S. **Mass Spectrometry of soils**. New York: Marcel Dekker, 1996. chap.2, p.47-82.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Coordenação de Inspeção Vegetal. Serviço de Inspeção Vegetal. Decreto nº 2314, de 04 de setembro de 1997. Padronização, classificação, registro, inspeção, produção e fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 15 de julho de 1994. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 11 de fevereiro de 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Coordenação de Inspeção Vegetal. Serviço de Inspeção Vegetal. Lei nº8918, de 14 de julho de 1994. Padronização, classificação, registro, inspeção, produção e fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 15 de julho de 1994. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 11 de fevereiro de 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Coordenação de Inspeção Vegetal. Serviço de Inspeção Vegetal. Instrução Normativa nº 01, de 07 de janeiro de 2000. Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2000. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 11 de fevereiro de 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Coordenação de Inspeção Vegetal. Serviço de Inspeção Vegetal. Instrução Normativa nº 12, de 04 de setembro de 2003a. Padrões de Identidade e Qualidade para Suco Tropical de Maracujá e Padrões de Identidade e Qualidade para Néctar de Maracujá. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 09 de setembro de 2003. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 11 de fevereiro de 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Coordenação de Inspeção Vegetal. Serviço de Inspeção Vegetal. Portaria nº544, de 16 de novembro de 1998. Padrões de Identidade e Qualidade para refresco e refrigerante de Maracujá. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 17 de novembro de 1998. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 11 de fevereiro de 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Coordenação de Inspeção Vegetal. Serviço de Inspeção Vegetal. Instrução Normativa nº4, de 05 de fevereiro de 2001. Aprova a Metodologia de Análise da Razão Isotópica 13C/12C em Produtos e Subprodutos das Plantas do Ciclo Fotossintético C3 e C4.. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 08 de fevereiro de 2001. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 07 de maio de 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para a bebida dietética e a de baixa caloria. Instrução Normativa nº 30, de 27 de setembro de 1999. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 29 de setembro de 1999. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=17680>>. Acesso em: 10 de set. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova o Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. Resolução-RDC n.360, de 23 de dezembro de 2003b. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 de dezembro 2003. Disponível em: <<http://elegis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=9059&word=RotulagemNutricionaldeAlimentosEmbalados>>. Acesso em: 17 nov. 2009.

BRITO, Izabele Paes de. **Caracterização e aproveitamento da água de coco seco (*Cocos nucifera* L.) na produção de bebidas**. 2004. 118 f. Dissertação (Mestre) - Curso de Nutrição, Departamento de Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.

CABRAL L.M.C. et al. Suco de Maracujá. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de Bebidas**. São Paulo: Edgard Blücher, 2005. cap.13, p.293-309.

CALDERONE, Giovanni et al. Analysis of isotopic ratios for the detection of illegal watering of beverages. **Food Research International**, v. 40, n. 03, p.324-331, abr. 2007.

CASTRO, Paulo R. C.. **Ecofisiologia de fruteiras tropicais: abacaxizeiro, maracujazeiro, mangueira, bananeira e cacaueteiro**. São Paulo: Nobel, 1998. 111 p.

CEPA, Instituto. **Estudos de economia e mercado de produtos agrícolas: Maracujá**. Florianópolis: Instituto de Planejamento e Economia Agrícola de Santa Catarina, 1998. 69 p.

CLETO F. V. G.; CONSOLINI F. Legislação brasileira de bebidas. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de Bebidas**. São Paulo: Edgard Blücher, 2005. cap 1, p. 1-20.

COTTE, J.f. et al. Study and validity of ^{13}C stable carbon isotopic ratio analysis by mass spectrometry and ^2H site-specific natural isotopic fractionation by nuclear magnetic resonance isotopic measurements to characterize and control the authenticity of honey. **Analytica Chimica Acta**, v. 582, n. 01, p.125-136, 16 jan. 2007.

DONER, Landis W.. Application of natural variations in $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios to detect adulteration of orange, lemon, and apple juices. In: NAGY, S. et al. **Adulteration of fruit juice beverages**. New York: Marcel Dekker, 1988. p. 125-138.

DONER, Landis W.; KRUEGER, Harold W.; REESMAN, Richard H.. Isotopic Composition of Carbon in Apple Juice. **J. Agric. Food Chem**, v. 28, n. 2, p.362-364, 1980.

DUCATTI, C. **Isótopos Estáveis Ambientais**. Botucatu: Centro de Isótopos Estáveis Ambientais, 2007. 205 p. (Apostila).

EGITO, A.S. et al. Método eletroforético rápido para detecção da adulteração do leite caprino com leite bovino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.5, p.932-939. 2006.

FELIPE, E. M. F. et al. Avaliação da qualidade de suco tropical de maracujá adoçado: caracterização físico-química e rotulagem; **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.1, p.65-69, 2006.

FERRARI, R. A. et al. Caracterização de subprodutos da industrialização do maracujá: aproveitamento das sementes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, n.1, p.101-102. 2004.

FÜGEL, R.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Quality and authenticity control of fruit purées, fruit preparations and jams - a review. **Trends In Food Science & Technology**, n. 16, p.433-441, 2005.

GUILLOU, C. et al. Determination of the ^{13}C contents of organic acids and sugars in fruit juices: an inter-comparison study. **Analytica Chimica Acta**, v. 388, n. 12-3, p.137-143, maio 1999.

GUILLOU, C. et al. Isotopic analyses of wine and of products derived from grape. **Bulletin O.I.V.**, v. 74, n. 839-840, p.26-36, 2001.

HISTÓRICO do Setor Disponível em:

<http://www.abir.org.br/rubrique.php3?id_rubrique=178>. Acesso em: 10 ago. 2009.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal.

Maracujá. Brasília: Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, 2007. Disponível em:

<<http://www.sidra.ibge.gov.br>>.

JAMIN, Eric; MARTIN, Frédérique; MARTIN, Gilles G.. Determination of the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio of ethanol derived from fruit juices and maple syrup by isotope ratio mass spectrometry: collaborative study. **Journal OF AOAC International**, v. 87, n. 03, p.621-631, 2004.

JEZEK, Juraj; SUHAJ, Milan. Application of capillary isotachopheresis for fruit juice.

Journal Of Chromatography A, v. 17, n. 1-2, p.185-189, abr. 2001.

JUNQUEIRA, Nilton Tadeu Vilela et al. **Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças**: Maracujá: germoplasma e melhoramento genético, 2005.

KAROUI, Romdhane; BAERDEMAEKER, Josse De. A review of the analytical methods coupled with chemometric tools. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p.621-640, 2007.

KELLY, S.D. Using stable isotope ratio mass spectrometry (IRMS) in food authentication and traceability. In: LEES, M. **Food authenticity and traceability**. London: Woodhead, 2003. chap.7, p.156-183.

KIRSTEN, M. Herbach et al. Isotope ratio mass spectrometrical analysis of betanin and isobetanin isolates for authenticity evaluation of purple pitaya-based products. **Food Chemistry**, v. 99, n. 01, p.204-209, 2006.

KOZIET, J.; ROSSMANN, A.; MARTIN, G. J. Determination of the ^{13}C contents of sugars of fruit and vegetables juices: inter-comparison study. **Analytica Chimica Acta**, v.271, p.31-38. 1993.

KRUEGER, D. A. Applications of stable ratio analysis to problems of fruit juice adulteration. In: NAGY, S.; ATTAWAY, J. A.; RHODES, M. E. **Adulteration of fruit juice beverage**. 2. ed. New York: Marcel Decker, 1995. cap. 7, p. 109-124.

KRUEGER, Harold W.; REESMAN, Richard H.. Carbon isotope analyses in food technology. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 1, n. 3, p.205-236, 1982.

LIMA, A. A. et al. Comercialização do Maracujazeiro. **Maracujá em foco**, Cruz das Almas, n 29, agosto,2006. Disponível em <<http://www.cnpmf.embrapa.br>>. Acesso em: 10 Fev. 2007.

LIMA, Adelise de Almeida et al. **A cultura do maracujá**: Embrapa comunicação para transferência de Tecnologia. 2. ed. Brasília: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 1999. 107 p.

LÓPEZ, R. Preferência por hábitos saudáveis gera excelentes oportunidades para o mercado. **Engarrafador Moderno**, v. 120, p. 8-14, maio 2004.

MACRER, R.; ROBINSON, R. K.; SADLER, M. J. Citrus fruits. In: MACRER, R.; ROBINSON, R. K.; SADLER, M. J. **Encyclopedia of food science, food technology, and nutrition**. San Diego: Academic Press, 1993. v. 2, p. 994-1023.

MAIA, Geraldo Arraes; SOUZA, Paulo Henrique Machado de; LIMA, Andréa da Silva. **Processamento de sucos de frutas tropicais**. Fortaleza: Edições UFC, 2007. 320 p.

MARTINELLI, Luiz A. et al. **Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis**. São Paulo: Oficina de Textos, 2009. 144 p.

MARTINELLI, Luiz A. et al. Stable carbon isotopic composition of the wine and CO₂ bubbles of sparkling wines: detecting C₄ sugar additions. **J. Agric. Food Chem**, v. 51, p.2625-2631, 2003.

MENDES, K. Sucos: Lucro líquido e em expansão, dezembro de 2006. ABIR. Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerante e de Bebidas Não-Alcoólicas. Disponível em: <http://www.abir.org.br/article.php3?id_article=2314>. Acesso em: 10 fevereiro de 2007.

MINSON, D. J.; LUDLOW, M. M. Differences in natural carbon isotope ratios of milk and hair from cattle grazing tropical and temperate pastures. **Nature**, v.256, p.602. 1975.

OGRINC, N. et al. The application of NMR and MS methods for detection of adulteration of wine, fruit juices, and olive oil.: A review. **Anal Bioanal Chem**, v. 376, p.424-430, 2003.

OLIVEIRA, A. C. B. et al. Isótopos estáveis e produção de bebidas: de onde vem o carbono que consumimos? **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.2, n. 22, p.285-288. 2002.

PARKER, I. G. et al. Investigation into the use of carbon isotope ratios (¹³C/¹²C) of Scotch whisky congeners to establish brand authenticity using gas chromatography-combustion-isotope ratio mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 63, n. 03, p.423-428, 03 nov. 1998.

PEDROSA, L. F. C. et al. Análise química de preparações usuais em cardápios populares brasileiros. **Revista de Nutrição da Puccamp**, Campinas, v. 7, n. 1, p. 48-61, 1994.
PHILIPPI, S. T.; RIGO, N.; LORENZANO, C. Estudo comparativo entre tabelas de composição química de alimentos para avaliação de dietas. **Revista de Nutrição da Puccamp**, Campinas, v.8, n. 2, p. 200-213, 1995.

PHILIPPI, Sônia T.. **Tabela de composição de alimentos: Suporte para decisão nutricional**: Suporte para Decisão Nutricional. 2. ed. São Paulo: Coronário, 2002. 130 p.

- PORTO, Peterson. **Otimização de análise isotópica de UF₆ utilizando-se a técnica de espectrometria de massas por quadrupolo.** 2006. 126 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, USP, São Paulo, 2006.
- POZZI, Alessandra Cristina Soares. **Desenvolvimento de método de análise espectrofotométrica de flavonóides do maracujá.** 2007. 73 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Instituto de Química de São Carlos, Usp, São Carlos, 2007.
- QUEIROZ, E. C. **Utilização dos isótopos estáveis de carbono e nitrogênio na detecção de adulteração e avaliação energética de bebidas de laranja.** 2005. 73f. Tese (Doutorado em Agronomia – Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2005.
- QUEIROZ, Elvio Cardoso et al . Determinação da razão isotópica $\delta^{13}\text{C}$ em bebidas comerciais a base de laranja. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 33, n. 4, Aug. 2009 .
- RAIMUNDO, Kátia et al . Avaliação física e química da polpa de maracujá congelada comercializada na região de Bauru. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, jun. 2009 .
- REDONDO, Ramón; YÉLAMOS, Javier G.. Determination of CO₂ origin (natural or industrial) in sparkling bottled waters by ¹³C/¹²C isotope ratio analysis. **Food Chemistry**, v. 92, n. 03, p.507-514, set. 2005.
- REID, Linda M.; O'DONNELL, Colm P.; DOWNEY, Gerard. Recent technological advances for the determination of food authenticity. **Trends In Food Science & Technology**, v. 17, n. 07, p.344-353, jul. 2006.
- RONCATTO, Givanildo et al . Enraizamento de estacas herbáceas de diferentes espécies de maracujazeiro. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 30, n. 4, Dec. 2008 .
- ROSSI, N. F. et al. Análise da adulteração de méis por açúcares comerciais utilizando-se a composição isotópica de carbono. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** , v. 19, n. 2, p.199-204. 1999.
- ROSSMANN, A. Determination of stable isotope ratios in food analysis. **Food Reviews International**, v.17, p.347-81. 2001.
- ROSSMANN, A. et al. Determination of the carbon-13 content of sugars and pulp from fruit juices by isotope-ratio mass spectrometry (internal reference method). A European interlaboratory comparison. **Analytica Chimica Acta**, v. 340, n. 1-3, p.21-29, 20 mar. 1997.
- SANDI, D. et al. Avaliação da qualidade sensorial de suco de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) submetido à pasteurização e armazenamento. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.21, n.1, p.141-158. 2003.
- SILVA, B. M. et al. Adulteração por adição de açúcares a sumos de frutos: uma revisão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 2, n. 4, p. 184-191. 1999.

SIMPKINS, Wayne A. et al. Stable carbon isotope ratio analysis of Australian orange juices. **Food Chemistry**, v. 70, n. 03, p.385-390, 15 ago. 2000.

SUCO Volume 2007 x 2008 (Em Mil Litros)– 2007 Disponível em:
http://www.abir.org.br/article.php3?id_article=3621. Acesso em: 10 ago. 2009.

SUCOS prontos: mais espaço nas gôndolas Disponível em:
<http://www.abir.org.br/article.php3?id_article=3763>. Acesso em: 10 ago. 2009.

TACO. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. NEPA-UNICAMP. 2. ed. Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, 2006. 113 p.

TAIZ, L.; ZEIGER E. Fotossíntese: considerações fisiológicas e ecológicas. In: TAIZ, L.; ZEIGER E. **Fisiologia Vegetal**; 3 ed. Porto Alegre: Artmed. Cap 9, p.199-219. 2004.

TRIVELIN, Paulo César Ocheuze. **Isótopos Estáveis. Espectrometria de massas para determinação de razão isotópica de elementos de baixo número atômico (IRMS). A técnica de traçador e a diluição isotópica** Disponível em:
<http://www.nutricaoeplantas.agr.br/site/ensino/pos/Palestras_Cena/Trivelin/DiluicaoIsotopica.doc>. Acesso em: 11 ago. 2009.

VERKOUTEREN, R. M. Strategies and practicalities in the production and use of gas standard materials. In: GROOT, P. A. **Handbook of stable isotope analytical techniques**. Amsterdam: Elsevier, 2004. chap. 43, p. 944-956.

WEBER, D. et al. Correlations of carbon isotope ratios of wine ingredients for the improved detection of adulterations, **Z Lebensm Unters Forsch A**, v. 205, p.158-164, 1997.