

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

PRODUÇÃO DE REFRIGERANTE A PARTIR DE ACEROLA
(Malpighia Glabra L.)

IVANETE APARECIDA BERNARDINO

Orientador: **Prof. Dr. Waldemar Gastoni Venturini Filho**

Dissertação apresentada á Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração em Energia na Agricultura.

BOTUCATU-SP
Agosto – 2002

Oferecimentos e Agradecimentos

Senhor, tudo é teu. Agradeço - Te o dom da vida, o novo dia, o sol que me aquece, a família presente. Obrigada pelo dom da sabedoria e do discernimento que Tu me destes.

Aos meus pais Conceição e Benedicto, Amores eternos de minha vida. Exemplos de VIDA, Compreensão e Oração, a minha gratidão por terem me educado para ser uma **MULHER**...

Ao meu esposo Vitor, Obrigado pelo amigo que me completa e dá sentido à minha vida; por me amar na simplicidade do que sou. Colaboração, estímulos e paciência não lhe faltaram nessa caminhada. Te amo!

Ao Professor Waldemar, pela orientação, ensinamentos, paciência e amizade.

Aos Colegas Muris, Daniela, Cristiane e Haíssa, cuja a convivência e o apoio foram fundamentais.

Ao **Sr. Américo Reis** pela concessão das frutas, apoio e confiança.

Aos técnicos da FCA, **Wilson, Teo, Andressa e Luis Henrique**.

A Professora **Maria Regiana Bueno Franco** (Unicamp) e suas orientadas **Gisele e Natália** pela acolhida e preciosa colaboração na análise do aroma.

Ao professor **Waldemar** e sua família, as colegas **Daniela e Fernanda, Cristiane** e sua família, e **Gisele** pela acolhida em seus lares.

Ao meu grande amigo **Maneco**, pela companhia nas horas de solidão.

A **FCA** e seus funcionários pela oportunidade.

A **FAPESP** pelo apoio financeiro à pesquisa.

" que o vosso comportamento mude, modelado por vossa nova mente" (**Rm**

12,2) Que assim seja...

"Não permita nunca que alguém que veio até você a deixe sem se sentir melhor e mais feliz."(**Madre Teresa de Calcutá**)

Tenho certeza que este dia me trará coisas boas...

SUMÁRIO

| | Página |
|--|--------|
| 1 RESUMO..... | 1 |
| 2 SUMMARY..... | 3 |
| 3 INTRODUÇÃO..... | 5 |
| 4 REVISÃO DE LITERATURA..... | 6 |
| 4.1 Acerola..... | 6 |
| 4.1.1 Histórico..... | 6 |
| 4.1.2 Produção e mercado..... | 7 |
| 4.1.3 Conservação da acerola..... | 9 |
| 4.1.4 Aspectos nutricionais..... | 11 |
| 4.1.5 Botânica..... | 14 |
| 4.2 Refrigerante..... | 15 |
| 4.2.1 Produção e mercado..... | 16 |
| 4.2.2 Legislação..... | 18 |
| 4.2.3 Matéria-prima..... | 19 |
| 4.2.3.1 Água..... | 19 |
| 4.2.3.2 Açúcar..... | 20 |
| 4.2.3.3 Gás carbônico..... | 21 |
| 4.2.3.4 Sucos..... | 23 |
| 4.2.3.4.1 Atividade enzimática em sucos..... | 24 |
| 4.3 Aditivos..... | 25 |
| 4.3.1 Corante..... | 25 |
| 4.3.2 Aromatizante..... | 26 |
| 4.4 Conservantes..... | 27 |
| 4.4.1 Benzoatos..... | 27 |
| 4.4.2 Sorbatos..... | 28 |
| 4.5 Pasteurização..... | 29 |

| | | |
|---------|--|----|
| 4.6 | Microrganismos e refrigerantes..... | 31 |
| 4.7 | Aroma - “Flavor” | 33 |
| 4.8 | Refrigerante de acerola..... | 37 |
| 5 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 38 |
| 5.1 | Material..... | 39 |
| 5.2 | Métodos..... | 41 |
| 5.2.1 | Planejamento experimental..... | 41 |
| 5.2.2 | Processamento..... | 42 |
| 5.2.3 | Protocolo de fabricação | 43 |
| 5.2.4 | Análises físico-químicas e microbiológicas..... | 44 |
| 5.2.5 | Análise de aroma..... | 46 |
| 5.2.5.1 | Isolamento de compostos voláteis..... | 46 |
| 5.2.5.2 | Análise cromatográfica dos compostos voláteis..... | 47 |
| 5.2.6 | Análise sensorial..... | 48 |
| 5.2.7 | Vida de prateleira (estabilidade) | 49 |
| 5.2.8 | Avaliação econômica..... | 50 |
| 5.2.9 | Análise estatística dos resultados..... | 52 |
| 6 | RESULTADOS | 53 |
| 6.1 | Resultados das análises das matérias-primas..... | 53 |
| 6.1.1 | Acerola | 53 |
| 6.1.2 | Açúcar..... | 55 |
| 6.1.3 | Água..... | 55 |
| 6.1.4 | Gás carbônico..... | 56 |
| 6.2 | Refrigerante..... | 56 |
| 6.2.1 | Refrigerantes preservados por pasteurização..... | 56 |
| 6.2.2 | Refrigerantes preservados por benzoato de sódio..... | 59 |
| 6.2.3 | Análises microbiológicas dos refrigerantes..... | 60 |
| 6.2.4 | Análise do perfil dos compostos voláteis dos refrigerantes testados..... | 61 |
| 6.2.5 | Análise sensorial dos refrigerantes..... | 64 |

| | | |
|-------|--|-----|
| 6.3 | Vida de prateleira dos refrigerantes testados..... | 67 |
| 6.3.1 | Análises físico-químicas dos refrigerantes com 30 dias..... | 67 |
| 6.4 | Avaliação econômica | 69 |
| 7 | CONCLUSÕES..... | 72 |
| 8 | REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFIA | 73 |
| 9 | APÊNDICE..... | 85 |
| 9.1 | Teste de rendimento da despoldadeira..... | 85 |
| 9.2 | Primeiro Pré Teste – açúcar (cristal x líquido) | 87 |
| 9.2.1 | Análise sensorial | 88 |
| 9.3 | Segundo Pré Teste – emulsão..... | 89 |
| 9.3.1 | Análise sensorial | 90 |
| 9.4 | Terceiro Pré Teste – carbonatação..... | 91 |
| 9.4.1 | Carbonatação de água – amostragens diárias..... | 92 |
| 9.4.2 | Carbonatação de água com reator com enchimento..... | 93 |
| 9.4.3 | Carbonatação de água com amostragem de hora em hora na temperatura de 5°C..... | 93 |
| 9.4.4 | Carbonatação de água com amostragem de hora em hora na temperatura de 2°C..... | 93 |
| 9.4.5 | Carbonatação do refrigerante – garrafa x tanque..... | 94 |
| 9.4.6 | Carbonatação do refrigerante com amostragens de uma hora e uma hora e meia e à temperatura de 1,4°C..... | 94 |
| 9.5 | Quarto Pré Teste – emulsão x corante..... | 95 |
| 9.5.1 | Análise sensorial..... | 96 |
| 9.6 | Quinto Pré Teste – determinação do valor de pasteurização equivalente (VPE) | 96 |
| 9.6.1 | Determinação do valor de pasteurização equivalente (VPE) | 97 |
| 9.6.2 | Análise microbiológica..... | 99 |
| 9.6.3 | Análise sensorial..... | 99 |
| 9.7 | Sexto Pré Teste - concentrações do conservante..... | 100 |
| 9.8 | Comparação de métodos para análise de vitamina C..... | 101 |
| 9.9 | Análise de refrigerantes comerciais..... | 102 |

| | |
|--|-----|
| 9.10 Ficha para avaliação em Escala Hedônica..... | 103 |
| 9.11 Ficha para avaliação em teste Triangular – diferença..... | 104 |

LISTA DE QUADROS

| Quadro | Página |
|---|--------|
| 1. Concentração de ácido ascórbico em algumas frutas..... | 11 |
| 2. Composição da acerola em 100g de polpa..... | 12 |
| 3. Característica da acerola em diferentes estágios de maturação..... | 13 |
| 4. Capacidade adoçante de açúcares e edulcorantes..... | 21 |
| 5. Análises do primeiro lote de acerola. | 53 |
| 6. Análise do segundo lote de acerola. | 54 |
| 7. Análise do açúcar cristal..... | 55 |
| 8. Análise da água..... | 55 |
| 9. Análises físico-químicas dos refrigerantes conservados por pasteurização (valores médios)..... | 57 |
| 10. Análises físico-químicas dos refrigerantes conservados por benzoato de sódio - químico (valores médios)..... | 59 |
| 11. Comparação dos refrigerantes conservados por pasteurização e pelo benzoato de sódio (quadro resumo)..... | 59 |
| 12. Análise de bolores e leveduras dos refrigerantes conservados quimicamente e através de pasteurização (valores médios)..... | 60 |
| 13. Análise sensorial dos refrigerantes pasteurizados..... | 65 |
| 14. Análise sensorial dos refrigerantes conservados quimicamente..... | 65 |
| 15. Análise sensorial dos refrigerantes conservados quimicamente e por pasteurização..... | 66 |
| 16. Análise sensorial de preferéncia dos refrigerantes conservados quimicamente e por pasteurização..... | 66 |
| 17. Análise físico-química de refrigerantes com 30 dias de vida de prateleira..... | 67 |
| 18. Custos de produção de refrigerante conservado com benzoato de sódio..... | 70 |
| 19. Custos de produção de refrigerante conservado por pasteurização..... | 70 |
| 20. Rendimento da despoldadeira..... | 85 |
| 21. Análises de °Brix do xarope simples e do xarope composto..... | 87 |
| 22. Análises físico-químicas dos refrigerantes produzidos com açúcar cristal e com açúcar líquido..... | 87 |
| 23. Análise sensorial dos refrigerantes produzidos com açúcar líquido e | |

| | |
|---|-----|
| açúcar cristal pelo teste triangular..... | 88 |
| 24. Análises de °Brix do xarope simples e do xarope composto, do segundo pré teste..... | 89 |
| 25. Análises físico-químicas dos refrigerantes produzidos com e sem emulsão comercial..... | 90 |
| 26. Aceitabilidade dos refrigerantes produzidos com e sem emulsão comercial, realizada pelo teste de escala hedônica estruturada. | 92 |
| 27. Resultado do teste de carbonatação da água durante cinco dias..... | 92 |
| 28. Resultado do teste de carbonatação da água com reator com enchimento..... | 93 |
| 29. Resultados do teste de carbonatação da água de hora em hora à 5°C..... | 93 |
| 30. Resultados do teste de carbonatação da água de hora em hora à 2°C..... | 94 |
| 31. Resultados dos testes de carbonatação do refrigerante preparado na garrafa e no tanque..... | 94 |
| 32. Resultados dos testes de carbonatação do refrigerante com amostragens de uma hora e uma hora e meia, na temperatura de 1,4°C..... | 95 |
| 33. Análises de °Brix do xarope simples e do xarope composto..... | 95 |
| 34. Análises físico-químicas dos refrigerantes..... | 96 |
| 35. Aceitabilidade dos refrigerantes produzidos com emulsão comercial e corante..... | 96 |
| 36. Análises do xarope simples e do xarope composto..... | 98 |
| 37. Análises físico-químicas dos refrigerantes..... | 99 |
| 38. Aceitabilidade dos refrigerantes conservados por pasteurização de 50 VPE e 100 VPE..... | 99 |
| 39. Análise microbiológica dos testes com diferentes concentrações de benzoato de sódio..... | 100 |
| 40. Resultados das análises de vitamina C realizados por dois métodos diferentes..... | 101 |
| 41. Análise físico-química de refrigerantes comerciais..... | 102 |

LISTA DE FIGURAS

| Figura | Página |
|---|--------|
| 1. Planta piloto de refrigerante..... | 38 |
| 2. Filtros de carvão ativo para tratamento da água do processo..... | 39 |
| 3. Estocagem das frutas em “freezer”..... | 40 |
| 4. Fluxograma de operações unitárias da fabricação de refrigerante..... | 42 |
| 5. Componentes utilizados no processo de fabricação do refrigerante..... | 43 |
| 6. Sistema de captura dos compostos voláteis do “heaspace” por sucção..... | 47 |
| 7. Cromatógrafo Shimadzu modelo GC – 17A..... | 48 |
| 8. Cabine de análise sensorial..... | 49 |
| 9. Refrigerantes conservados por pasteurização e por benzoato de sódio..... | 50 |
| 10. Cromatogramas sobrepostos dos refrigerantes pasteurizado com diferente °Brix (10, 11 e 12)..... | 62 |
| 11. Cromatogramas sobrepostos dos refrigerantes conservados quimicamente com diferente °Brix (10, 11 e 12). | 62 |
| 12. Cromatogramas sobrepostos da acerola, aroma artificial e refrigerante pasteurizado (11°Brix)..... | 63 |
| 13. Cromatogramas sobrepostos da acerola, aroma artificial e refrigerante conservados quimicamente (11°Brix)..... | 63 |
| 14. Alimentação da despoldadeira e retirada da polpa..... | 86 |
| 15. Retirada da polpa e das sementes..... | 86 |
| 16. Gráfico da Pasteurização de 50 VPE..... | 97 |
| 17. Gráfico da Pasteurização de 100 VPE..... | 98 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| Abreviaturas | Termos |
|--------------|---|
| AR | açúcares redutores |
| ART | açúcares redutores totais |
| P1 | refrigerante pasteurizado primeira repetição |
| P2 | refrigerante pasteurizado segunda repetição |
| P3 | refrigerante pasteurizado terceira repetição |
| Q1 | refrigerante preservados quimicamente primeira repetição |
| Q2 | refrigerante preservados quimicamente segunda repetição |
| Q3 | refrigerante preservados quimicamente terceira repetição |
| P1B10 | refrigerante pasteurizado primeira repetição, Brix 10 |
| P2B11 | refrigerante pasteurizado segunda repetição, Brix 11 |
| P3B12 | refrigerante pasteurizado terceira repetição, Brix 12 |
| Q1B10 | refrigerante preservados quimicamente primeira repetição, Brix 10 |
| Q2B11 | refrigerante preservados quimicamente segunda repetição, Brix 11 |
| Q3B13 | refrigerante preservados quimicamente terceira repetição, Brix 12 |
| PB10 | refrigerante pasteurizado, Brix 10 |
| PB11 | refrigerante pasteurizado, Brix 11 |
| PB12 | refrigerante pasteurizado, Brix 12 |
| QB10 | refrigerante preservados quimicamente, Brix 10 |
| QB11 | refrigerante preservados quimicamente, Brix 11 |
| QB12 | refrigerante preservados quimicamente, Brix 12 |

1 RESUMO

O refrigerante está se destacando no mercado brasileiro de bebidas pelo alto consumo, o qual faz do Brasil o 3º produtor mundial. A acerola por ser uma fruta rica em vitamina C e sabor agradável vem despertando interesse crescente no consumidor brasileiro e apresenta uso potencial como matéria prima na produção de refrigerante. Na presente pesquisa foram desenvolvidos três tipos de refrigerantes a base de acerola, variando o teor de extrato (10, 11 e 12 °Brix) na sua formulação, procurando obter um produto de boa qualidade sensorial e nutritiva (rico em vitamina C). Os refrigerantes foram conservados por dois processos diferentes: a) pasteurização e b) conservante químico. As matérias primas que foram usadas na fabricação dos refrigerantes foram: açúcar cristal, água (rede municipal tratada pela SABESP e filtrada em carvão ativo), gás carbônico (qualidade alimentícia) e acerola (suco). Foram realizadas análises: físico-químicas, microbiológicas, perfil do aroma; sensoriais (diferença e preferência) nos refrigerantes e vida de prateleira no produto acabado. Foi realizada avaliação econômica através do cálculo do custo médio de produção de refrigerante. Através das análises físico-químicas dos refrigerante observou-se que os

tratamentos de variação de °Brix não alteraram os valores de pH, o teor de AR, o teor de vitamina C e o grau de carbonatação. Os valores de ART acompanharam os valores de °Brix. Os tratamentos de conservação dos refrigerantes não alteraram a maioria das características físico-químicas dos mesmos. Através das análises microbiológicas observou-se que o tratamento térmico usado na pasteurização dos refrigerantes destruiu toda a população de fungos e leveduras e que os refrigerantes tratados quimicamente apresentaram crescimento de bolores e levedura, porém dentro da faixa aceita. Na análise sensorial, observou-se que os provadores atribuíram maiores notas para os refrigerantes conservados quimicamente, mas as diferenças entre as médias não apresentaram significado estatístico. Os refrigerantes tiveram uma boa aceitabilidade, pois o painel atribuiu notas entre 6 (gostei ligeiramente) e 7 (gostei regularmente). Na análise de vida de prateleira dos refrigerantes para os dois tratamentos de conservação, o AR aumentou e a concentração de vitamina C diminuiu. Nos refrigerantes tratados quimicamente ocorreram alterações físicas na forma de um precipitado (polpa e corantes) no fundo da garrafa, porém não apresentaram sabores ou odores estranhos. Nos refrigerantes tratados por pasteurização não ocorreram alterações de cor, porém seu sabor foi alterado, apresentando sabor e odor de cozido. Os tratamentos não alteraram os custos de produção dos refrigerantes conservados térmica e quimicamente.

PRODUCTION OF ACEROLA SOFT DRINK (*Malpighia glabra L.*). Botucatu, 2002. 104p.
Dissertação (Mestrado em Agronomia – Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências
Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: IVANETE APARECIDA BERNARDINO

Adviser: WALDEMAR VENTURINI FILHO

2 SUMMARY

The soft drink is attracting attention to the Brazilian beverage market for its high consumption, which makes Brazil the third world producer. The acerola, for being a rich in vitamin C and of pleasant flavor, is waking up growing interest in the Brazilian consumer and it presents potential use as raw material in the soft drink production. In the present reserch three types of soft drinks, based on acerola, were developed, varying the extract content (10, 11 and 12 °Brix) in their formulation, trying to get a product of good sensorial and nutritious quality (rich in vitamin C). Two different processes conserved the self drinks: a) pasteurization b) chemical preserver. The raw materials that were used in the production of the soft drinks were: sugar (in the crystallized form), water (treated municipal net and filtered in active coal), carbonic gas (nutritious quality) and acerola (juice). Analyses were accomplished: physico-chemical, microbiological, aroma profile; sensorial (difference and preference) in the soft drinks and shelf life in the finished product. Economical evaluation was varied out through the calculation of the medium cost of production of the soft drink. Through the physico-chemical analyses it was observed that the variation of °Brix treatments did not alter the pH values as well as reducing sugar, content, the vitamin C content, the carbonation degree. The total reducing sugar values accompanied the °Brix values. The

treatments of conservation of the soft drinks did not alter most of the physico-chemical features of the soft drinks. Through the microbiological analyses it was observed that the thermal treatment in the soft drinks pasteurization destroyed the whole molds and yeasts population and that the chemically treated soft drinks presented growth of mold and yeast, but within of what could be accepted. In the sensorial analysis, it was observed that the taster had attributed higher marks for the chemically preserved soft drinks, but the differences among the averages did not present statistical significance. The soft drinks had a good acceptability, because the panel attributed marks between 6 (I liked lightly) and 7 (I liked regularly). In the analysis of the shelf life of the soft drinks for the two conservation treatment, the reducer sugar increased, the vitamin C concentration decreased. In the chemically treated soft drinks happened physical alterations in the form of a precipitate (pulp and coloring) in the bottle; nevertheless they did not present off flavors or scents. On the other hand, in the soft drinks treated by pasteurization, it did not happen color alteration, however their taste changed presenting taste and scent as they had been cooked. It was observed that the treatments did not alter the production costs of the thermally and chemically preserved soft drink.

Keywords: Acerola, Soft Drink and treatments.

3 INTRODUÇÃO

O presente projeto de pesquisa foi desenvolvido atendendo aos interesses de uma empresa que buscou na universidade apoio para inovações tecnológicas. A Agro I. Reis S/A, localizada no município de Bauru – SP, produtora de acerola e fabricante de licor dessa fruta, da marca Licorola, comercializado no mercado interno e que deverá ser também no mercado externo. Essa empresa que tem como objetivo a diversificação de seus produtos a base de acerola, aproveitando o momento favorável e as boas perspectivas futuras do mercado de refrigerantes resolveu desenvolver, juntamente com a UNESP - Campus de Botucatu, o projeto de produção de refrigerante a base de acerola.

O objetivo desse trabalho foi desenvolver um refrigerante utilizando acerola em fruta. Essa bebida foi elaborada de forma a garantir boa qualidade nutritiva – elevado teor de vitamina C – e sensorial.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Acerola

A acerola é uma fruta rica em vitamina C bem como carotenos, tiaminas, riboflavinas, niacina, proteínas e sais minerais (ferro, cálcio e fósforo). Tem alta atividade antioxidante devido ao alto teor de vitamina C (Assis et al., 2000).

4.1.1 Histórico

Silva (2000) cita que estudos realizados mostraram que os nomes, *Malpighia puniceifolia* L. e *Malpighia glabra* L., são sinônimos, sendo o nome correto, *Malpighia emarginata* D.C.. A adoção do nome *M. emarginata* D. C., ainda é pequena, no entanto, o uso desta denominação foi adotado no Conselho Internacional de Recursos Genéticos Vegetais (IBPGR), em reunião na Itália em 1986.

A acerola, *Malpighia glabra L.*, têm sua origem nas Antilhas, mais especificamente em Porto Rico (Tocchini et al., 1995). Segundo Marino (1986), a Universidade Federal Rural de Pernambuco introduziu-a no estado de Pernambuco, em 1955, porém em São Paulo, ela já era conhecida há mais de cinquenta anos, sendo encontrada em chácaras, sítios e fazendas, em plantios sem finalidade comercial ou industrial.

O suco de acerola tem o mais alto teor de vitamina C de todos os sucos vendidos comercialmente. O primeiro suco processado no Brasil foi há mais de 15 anos e introduzido na Europa. Naquela época a acerola teve uma grande aceitabilidade também no Japão, USA e outros países, menos na Europa (Marino, 1986).

A acerola pode ser utilizada para fabricação de sucos (integral, concentrado e liofilizado), refrigerante, bombons, gomas de mascar, geleias, cápsulas, néctares, compotas conforme Figueirêdo (1998) e para misturas de sucos de frutas, bebidas esportivas, pílulas vitamínicas e sorvetes como portador de vitamina C natural segundo Korgo (1996). A possibilidade de aplicações são ilimitadas e as quantidades estão disponíveis em preços tornando-se favoráveis conforme Korgo (1996).

4.1.2 Produção e mercado

Embora as receitas com a exportação de acerola não sejam ainda muito representativas em valor absoluto, comparando-se a relação valor total das exportações/área plantada, verifica-se que a participação da acerola é de US\$ 2.205/ha plantado, superando a manga e a laranja, cujas participações são de US\$ 383/ha e US\$ 1.366/ha, respectivamente

segundo Bliska e Leite (1995). A acerola é uma das principais frutas tropicais que têm uma grande importância comercial no Brasil (Assis et al., 2000).

Os japoneses comercializam um tipo de suco clarificado de acerola com o argumento de “vitamina natural”. Os alemães, principais consumidores europeus, compram o fruto como ingrediente para adicionar às marmeladas e geleias, vendidas nas lojas de produtos dietéticos. Os franceses, tem enriquecido sucos de laranja e iogurtes, inseridos no filão de “produtos para a saúde” conforme Bensimon (1991) citado por Figueirêdo (1998).

Os primeiros plantios comerciais de acerola no Brasil foram instalados na década de 80, amparados pelo mercado japonês que absorvia a produção de polpas e frutos congelados, de tal forma que despertou o interesse pela fruta no mercado nacional que passou a desejá-la avidamente, ao ponto de pagar um preço até três vezes mais caro que o mercado externo (Gayet, 1995). De acordo com Lucas (1993), o consumidor brasileiro tornou-se mais consciente da importância dos alimentos naturais para a saúde humana, o que tem contribuído para fortalecer e difundir o consumo da acerola.

Muitos produtores plantaram acerola sem levar em consideração a real situação das possibilidades do mercado, criando uma situação de super-oferta e tornando essa cultura deficitária, como se encontrava em fevereiro de 1995. Com 2.804 ha plantados de acerola em 1995, produzindo 23.000 toneladas de frutas frescas, com perdas de 30%. Desse montante, 85% destinou-se ao mercado interno e 15% ao mercado externo.

Os principais problemas no setor de acerola são a elevada perecibilidade dos frutos após a colheita e durante o processo de comercialização; a necessidade da preservação das características organolépticas tanto da fruta “in natura” como

de seus derivados durante o período de armazenamento e a ausência de padronização de tais produtos (Bliska e Leite, 1995).

4.1.3 Conservação da acerola

O amadurecimento da fruta envolve uma série de reações bioquímicas complexas, tais como: hidrólise de amido, produção de carotenóides, conversão de cloroplastos em cromoplastos com transformação da clorofila, antocianinas e formação de compostos voláteis fenólicos. Todas essas reações são importantes para as características finais da fruta madura e seu sabor peculiar (Speirs e Brady, 1991 e Vendramini e Trugo, 2000).

A acerola é conservada satisfatoriamente sob refrigeração por alguns dias, sem perda apreciável de vitamina C. Quando armazenada sob congelamento, mantém inalterados a cor e o sabor, sem perda de ácido ascórbico por um longo período (um ano), segundo Couceiro (1985) citado por Alves (1993).

Sob refrigeração, o metabolismo é retardado embora os tecidos permaneçam vivos. No congelamento, entretanto, as reações metabólicas são drasticamente reduzidas, porém não totalmente inibidas segundo Berhardt, Tocchini e Paschoalino (1979) e Guda e Posloseski (1986) citados por Alves (1999).

Carneiro (1997) citado por Alves (1999), salienta também que nas condições usuais para armazenamento de produtos congelados (18°C negativos), a atividade microbiana é praticamente paralisada, tendo em vista que os microrganismos não se desenvolvem em temperaturas inferiores a 10°C negativos.

Estudos realizados por Oliva et al. (1996) sobre a estabilidade do néctar da acerola armazenado sob congelamento, com dois processamentos térmicos (Hot Fill e Spin Cooker-Cooler) e amostra padrão - testemunha - sem tratamento térmico, mostrou que a amostra padrão congelada teve 3% de perda de ácido ascórbico no período de 180 dias. Quando as amostras foram comparadas em relação ao atributo sabor, não houve diferenças significativas.

Maciel et al. (1999) estudaram o congelamento (18°C negativos) da acerola em fruta e em polpa, por 180 dias. Na fruta, ocorreu perda de 26% de vitamina C, porém a acidez total e o pH não se alteraram neste período, sendo que o °Brix teve um leve declínio. Para a polpa da fruta congelada, foram observadas maiores perdas de ácido ascórbico (37,5%), a acidez total e o pH permaneceram inalterados e o °Brix seguiu o comportamento que ocorreu na fruta congelada (Maciel et al., 1999).

O congelamento deve ser realizado no menor espaço de tempo possível. No processo de congelamento lento ocorrem alterações físicas muito drásticas no produto, principalmente formação de cristais de gelo grandes, que perfuram as células, liberando enzimas responsáveis pela degradação dos principais constituintes e provocam alterações indesejáveis na cor, como o amarelecimento (Gongatti Netto et al., 1996).

4.1.4 Aspectos nutricionais

A acerola é conhecida pelo seu valor nutritivo decorrente do alto teor de vitamina C, que é 30 a 40 vezes superior ao da laranja, além da presença de vitamina A, ferro e cálcio, que tornam a acerola uma fruta de grande valor para dietas nutricionais. Sendo

de origem natural, a vitamina C da acerola é completamente absorvida pelo organismo, diferentemente das vitaminas artificiais que são apenas parcialmente (50%) aproveitadas (Gayet, 1995 e Araujo e Minami,1994).

No Quadro 1 são apresentados valores de ácido ascórbico (vitamina C) de algumas frutas, adaptado de Silva (2000) e de Figueirêdo (1998).

Quadro 1. Concentração de ácido ascórbico em algumas frutas.

| FRUTAS | ÁCIDO ASCÓRBICO (mg/100g) | FRUTAS | ÁCIDO ASCÓRBICO (mg/100g) |
|-------------|------------------------------|--------------|------------------------------|
| Abacate | 15,0 | Laranja doce | 37 – 80 |
| Abacaxi | 27,2 | Limão | 23 – 60 |
| Acerola | 1.000 – 4.676 | Manga | 30 – 147 |
| Amora | 210,0 | Mamão | 36 – 109 |
| Banana | 10,0 | Melão | 12,5 – 58,7 |
| Camu-camu | 2.000 – 5.000 | Melancia | 9,0 |
| Cabeludinha | 706 – 2.417 | Morango | 41 – 81 |
| Caju | 147 – 548 | Pêssego | 18,7 – 26,8 |
| Goiaba | 30 – 486 | Tangerina | 15 – 56 |

Miller et al. (1961) citado por Tocchini et al. (1995) analisaram a composição da acerola cujos resultados são mostrados no Quadro 2.

Quadro 2. Composição da acerola em 100g de polpa.

| COMPOSIÇÃO | | MINERAIS | | VITAMINAS | |
|----------------|--------|----------|--------|-----------------|---------|
| Umidade | 91.10g | Cálcio | 8.7mg | Caroteno | 0.408mg |
| Proteína | 0.63g | | | Tiamina | 0.028mg |
| Extrato etéreo | 0.19g | Fósforo | 16.2mg | Riboflavina | 0.079mg |
| Fibras | 0.60g | | | Niacina | 0.034mg |
| Cinzas | 0.45g | Ferro | 0.7mg | Ácido ascórbico | 2.329mg |
| Carboidratos | 6.98g | | | | |

Righetto e Netto (2000), verificaram ser o ácido ascórbico o principal ácido presente na acerola, seguido do ácido málico e do tartárico. Identificou-se também pequenas quantidades de ácido cítrico na acerola verde, e quantidades ainda menores no suco da acerola madura.

No campo da saúde, a acerola é particularmente indicada nos casos de escorbuto, como preventivo e curativo e como coadjuvante nas anorexias de várias causas, restrições dietoterápicas prolongadas, infecções de longa duração, gripes, resfriados, lesões hepáticas, afecções pancreáticas, dispepsia, vômitos insidiosos, úlceras do trato digestivo, nas alterações do mecanismo da coagulação sanguínea, nas hemorragias capilares, estados de intoxicação por antibióticos e também para o tratamento de pessoas com câncer (Marino,1986). O consumo diário de 2 a 4 acerolas é suficiente para atender às necessidades normais do organismo humano (Marino,1986 e Bliska e Leite, 1995).

É indicado nas dietas de gestantes, das lactantes, das crianças e dos jovens em fase de crescimento bem como nas das pessoas idosas ou em processo de desgaste físico intenso, por ser um ativador indispensável em todo o metabolismo celular (Tocchini et al., 1995).

A acerola também é excelente fonte de carotenóides. O potencial vitamínico deste pigmento e sua possível associação com o processo de carcinogênese tem despertado grande interesse na química e na estabilidade dos carotenóides em alimentos. Além disso, conferem um importante papel tecnológico, junto com as antocianinas, como corante natural (Agostini-Costa et al., 2001).

Na acerola, é encontrado, além da vitamina C, também vitaminas do complexo B, beta-caroteno e minerais (Aguiar et al., 2000).

As antocianinas são intensificadoras de pigmentos solúveis em água como corantes azul, vermelho e laranja. Esse pigmento é responsável pela cor da uva, morango e framboesa (Giese, 1995).

Em estudo sobre o efeito do congelamento da polpa de acerola sobre o teor de carotenóides e antocianinas, Agostini-Costa et al. (2001) verificaram que a polpa fresca apresentou 1.262 U.I./100g, correspondendo a 25% das necessidades diárias de vitamina A/100g polpa (um copo de suco). Após congelamento, este potencial vitamínico não apresentou perda significativa até o sexto mês de estocagem: após este período o teor de vitamina foi reduzido em 70% e então mantido.

Vendramini e Trugo (2000), analisaram a composição da acerola em 3 estágios de maturação (Quadro 3).

Quadro 3 Característica da acerola em diferentes estágios de maturação.

| Composição | ESTADO DE MATURACÃO | | |
|-------------------------------|---------------------|----------------------------|----------------------|
| | Verde | Amarela (intermediária) | Vermelha (madura) |
| Umidade (g/100g) | 91,0 | 92,4 | 92,4 |
| Proteína(g/100g) | 1,2 | 0,9 | 0,9 |
| Cinzas(g/100g) | 0,4 | 0,4 | 0,4 |
| Ácido Ascórbico (mg/100g) | 2.164 | 1.065 | 1.074 |
| pH (g/100g) | 3,7 | 3,6 | 3,7 |
| Sólidos Solúveis (g/100g) | 7,8 | 7,7 | 9,2 |
| Açúcares Redutores (g/100g) | 3,3 | 4,2 | 4,4 |
| Acidez (ml de NaOH 0.1N/100g) | 18,2 | 15,6 | 34,4 |

4.1.5 Botânica

A aceroleira é um arbusto glabro, de tamanho médio (2 a 3 metros de altura) com ramos densos. As folhas são opostas, de pecíolo curto, ovalada a elíptica, lanceoladas, com 2,5 a 7,5 cm de comprimento com a base e o ápice principalmente agudos; são inteiras, verde-escuras e brilhantes na parte superior e verde-pálidas no lado inferior da folha. As flores são dispostas em pequenas cimeiras axilares pedunculadas, de três a cinco

flores perfeitas, com 1 a 2 cm de diâmetro de cor rosa esbranquiçado e vermelho; o cálice tem de seis a dez sépalas césseis, a corola é composta de cinco pétalas franjadas ou irregulares dentadas, com garras finas; há dez estames, todos perfeitos, com os filamentos unidos embaixo. Os frutos variam em tamanho forma e peso. A forma pode ser oval e subglobosa e o tamanho varia de 2 a 10 gramas. Quanto a cor, o fruto apresenta tonalidades diferentes: verde quando em desenvolvimento, passando a amarelo e finalmente vermelho-escuro quando bem maduro. O fruto apresenta normalmente três sementes e um suco avermelhado. A polpa representa 80% do peso do fruto (Marino,1986).

A aceroleira desenvolve-se melhor em temperaturas médias de 26° C, com chuvas variando de 1200 a 1600 mm. Chuvas excessivas provocam a formação de frutos aquosos, menos ricos em açúcares e em vitamina C (Kawati, 1995 e Alves e Menezes, 1995).

A frutificação inicia-se, em média, a partir de dois anos do plantio. Nas regiões mais quentes do estado de São Paulo, o período de produção vai de outubro à maio. Nas regiões de clima mais ameno, o período de colheita reduz-se para 4 a 6 meses (Kawati, 1995).

4.2 Refrigerante

O refrigerante surgiu no século 17 em Paris, e era feito com água, suco de limão e mel. Na sua fórmula original, não havia gás. Foi somente a partir de 1772, quando o cientista inglês Joseph Priestley iniciou suas experiências com gaseificação de líquidos que o refrigerante ganhou “bolinhas” de gás (Refrigerante surgiu no século 17 e não tinha gás, 2001).

Segundo Byrne (1993) os refrigerantes com características exóticas têm despertado interesse dos centros de desenvolvimento de produtos, particularmente nas áreas de água mineral aromatizada e cola clara. Ambos os produtos tem desfrutado de sucesso fenomenal nos EUA. Na cola clara, muitas variedades estão agora disponíveis, inclusive a Pepsi Cristal na forma tradicional e sem açúcar (diet).

Conforme Beal (1998), os consumidores estão cada vez mais dispostos a experimentar novidades em sabores e aromas de bebidas exóticas.

A indústria de produtos padronizados, como a Coca-cola, ainda fornece um desafio para as indústrias. A procura para se achar a "nova" Coca-cola, absorve muitos fabricantes. O sucesso poderia vir de qualquer lugar segundo Beal (1998).

O aumento no nível de vendas de refrigerantes entre consumidores adultos tem introduzido o começo de uma "nova era": bebidas voltadas para adultos. Várias características o distinguem de outras bebidas do mercado: seus ingredientes - usualmente naturais; seu público alvo - jovens e adultos; sua embalagem - freqüentemente de vidro ou lata; e o tipo de consumidor que ele atrai - que procuram novidades (James, 1997). Existe uma demanda de consumo para bebidas livres de preservativos, com ingredientes naturais e de sabor agradável, conforme Giese (1995), Josse (1987), Klengenberg e Hüttmann (1999) e Nielsen (1999). Pesquisas realizadas pelo grupo Wild mostram que no Japão e na Alemanha os consumidores de bebidas são favoráveis a produtos inovadores principalmente com a adição de substâncias com princípio ativo como combinações de vitaminas (Pacheco, 1998).

Conforme James (1997), bebidas de frutas para adultos que são refrigerantes com aroma de fruta orientados para esse público, constituem o principal mercado nos EUA, e também começa a estabilizar-se na Europa e Austrália. A marca Shapple, de

propriedade da Quaker Oats, foi a pioneira no mercado, tornando-se uma marca global, embora a Coca-cola e Schweppes Beverage's Oasis também seja uma grande competidora no mundo.

Essa nova era traz bebidas a base de frutas que combinam “flavours” de frutas exóticas (Giese, 1995). Aumenta-se cada vez mais as variações de sabor nos refrigerantes, muitos dos quais com mistura de extratos de frutas. O sabor de limão e de cola detem a primeira posição no mercado seguido depois do sabor pêssego (Blenford, 1997).

Blenford (1997) comenta que a inclusão de cor nos refrigerantes depende do mercado ao qual o produto é direcionado. Bebidas para crianças, tenderá a ter cores mais fortes e brilhantes, ao passo que bebidas para adultos consideravelmente menos.

Em 1988, foi lançado o primeiro “soft drink” de acerola (Bliska e Leite, 1995).

4.2.1 Produção e mercado

O Brasil que é um país de clima tropical, propício para o consumo de bebida gelada, encontrando-se em toda sua história na melhor fase para a indústria de refrigerantes. Nos últimos seis anos as vendas saltaram de 5,6 bilhões para 11 bilhões de litros ano e o faturamento anual ultrapassou os R\$ 7 bilhões. É o terceiro mercado de refrigerantes do mundo, atrás dos Estados Unidos e do México, e pode crescer ainda mais (Prestes e Cavalcante, 1999). No mercado australiano de refrigerantes o crescimento estimado para o ano de 1999 foi de 4 bilhões de dólares, refletindo na produção em um acréscimo de 1,8 a 2,2 bilhões de litro/ano (Gentile, 2000).

Os fabricantes brasileiros estão programando um pacote de U\$ 5 bilhões em investimentos para os próximos 3 anos, fazendo com que o Brasil se torne o segundo produtor mundial (Prestes e Cavalcante, 1999). Entre 1990 e 1999 houve um crescimento de 100% no consumo de refrigerante (Berto, 2001). Segundo a ABIR (Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes), a previsão de crescimento deste mercado para o ano de 2000 foi de 6%, considerando uma previsão de aumento do PIB de 3 a 3,5% (Tocchini e Nisida, 2000b).

O melhor período de vendas de refrigerantes, segundo Berto (2001) é a segunda quinzena de dezembro, este período corresponde a 6% das vendas do ano. O consumo per capita brasileiro está na faixa de 58 a 60 litros anuais, contra 200 litros anuais dos mexicanos (Tocchini e Nisida, 2000a), sendo o Brasil o 25º país em consumo “per capita” (Berto, 2001).

Cerca de 100 empresas de refrigerantes estão no mercado e 3.500 marcas são comercializadas. O mercado brasileiro movimentava R\$12 bilhões/ano e para 2001 a previsão era de crescimento de 5%, porém devido a crise energética e a instabilidade mundial, esta caiu para 3% (Berto, 2001). Os pequenos e médios fabricantes de refrigerante, representam 30 a 35% do respeitado mercado (Martino, 2000).

O aumento verificado na produção mundial e brasileira de refrigerante não foi feito desvinculado da qualidade do produto, há uma clara tendência de mercado na qual os consumidores preferem as bebidas ricas nutricionalmente. “Há quase dez anos, quando tinham sede, as pessoas escolhiam o que beber pelo sabor. Hoje pensam no que é mais natural” conforme Valentini (1999).

Em pesquisa realizada nos Estados Unidos com crianças de 2 a 17 anos, mostra que o consumo diário de refrigerantes em relação a outras bebidas líquidas é de: na idade de 2 a 5 anos de 33 a 35%; 6 a 11 anos de 45 a 47% e de 12 a 17 anos 63 a 68% (Ballew et al., 2000). Harnack et al. (1999), apresentaram em outra pesquisa realizada nos Estados Unidos, apresentaram a porcentagem por grupo de idade e consumo diário de refrigerantes: 11,7% das crianças entre 2 e 5 anos e 32,3% entre 6 e 12 anos, consumiram 266mL/dia; enquanto que os mais velhos, 22,2% entre 13 e 18 anos, consumiram 769mL/dia.

4.2.2 Legislação

De acordo com a legislação vigente (Brasil, 1997), refrigerante é a bebida gaseificada, obtida pela dissolução em água potável, de suco ou extrato vegetal de sua origem, adicionada de açúcares. O refrigerante deverá ser obrigatoriamente saturado de dióxido de carbono, industrialmente puro. Não é permitida a associação de açúcares e edulcorantes hipocalóricos e não-calóricos na fabricação de refrigerantes.

4.2.3 Matéria-prima

4.2.3.1 Água

A água representa a matéria-prima principal dos refrigerantes, por constituir em pelo menos 83% do líquido envasado (Garcez Filho, 1995) e em refrigerantes “diet” representa 98% do líquido (Giese, 1995). A água interfere diretamente na qualidade do

produto final, assim é fundamental um controle que obedeça os padrões de potabilidade garantindo qualidade nas características organolépticas (Varnan e Sutherland., 1997). Se a água utilizada possuir características alcalinas deverá passar por processo de tratamento pois consome a acidez do refrigerante. Caso contrário, ou seja, alcalinidade baixa pode causar o aparecimento de sais orgânicos que interferem no sabor do refrigerante. A água para refrigerante não deve conter cloro e fenóis, pois conferem o sabor característicos de remédio e provocarão reações de oxidação e despigmentação, alterando a cor original do produto. A água deve ser isenta de metais pesados, pois aceleram as reações de oxidação, atuando como catalizadores degradando mais rapidamente o produto. A dureza total deve ser baixa pois causa incrustações em equipamentos e tubulações, inclusive porosidade que favorece o surgimento de focos de contaminações microbiológicas (Garcez Filho,1995). O controle microbiológico deve ser observado no tratamento da água, pois pode propiciar o crescimento de microrganismos contaminantes, ocasionando risco a saúde e comprometendo a qualidade do produto. Assim, a água deve ser tratada com cloro para garantir uma supercloração, visando sua descontaminação, seguida de uma decloração em filtro de carvão ativo com a finalidade de torná-la adequada para o processo de fabricação (Varnan e Sutherland, 1997).

4.2.3.2 Açúcar

O açúcar, após a água, é o ingrediente de maior participação e importância na produção de refrigerante. Entre os objetivos de sua utilização, podemos citar: a) transmitir sabor adocicado do refrigerante; b) fornecer “corpo” à bebida (textura); c) junto

com o ácido cítrico, fixar e realçar o sabor; d) fornecer o valor energético (Santana,1995 e Hansson et al., 2001).

Existem vários tipos de adoçantes, o mais utilizado é a sacarose. Este açúcar é um carboidrato de fórmula molecular $C_{12}H_{22}O_{11}$. É um dissacarídeo, produzido pela condensação da glicose com a frutose; obtida comercialmente a partir da cana-de-açúcar ou da beterraba (Ucko, 1992 e Hansson et al., 2001).

Adoçantes obtidos do milho estão em uso crescente. O amido de milho é hidrolizado até glicose, para produzir o xarope de milho. Por meio de um tratamento enzimático (glicose isomerase), a glicose é convertida a frutose, que apresenta o dobro do poder edulcorante (Ucko, 1992).

Observa-se no Quadro 4 a capacidade adoçante de açúcares e edulcorantes segundo Ucko (1992).

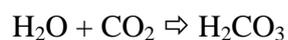
Quadro 4. Capacidade edulcorantes relativas de alguns açúcares e adoçantes.

| ADOÇANTES | CAPACIDADE EDULCORANTE RELATIVA |
|------------------|--|
| Sacarina | 300 |
| Aspartame | 200 |
| Frutose | 1,7 |
| Mel | 1,4 |
| Melado | 1,1 |
| Sacarose | 1 |
| Açúcar Invertido | 0.9 – 1 |
| Glicose | 0,5 |
| Maltose | 0,3 |
| Galactose | 0,3 |
| Lactose | 0,2 |

Açúcar invertido é o produto obtido pela hidrólise da sacarose e constituído pela mistura equimolar de glicose e frutose. Apresenta-se como líquido denso e viscoso, com teor de extrato variando de 67 a 76 °Brix. Atualmente, vem substituindo progressivamente o açúcar comum na fabricação de refrigerantes (Almeida, 1999).

4.2.3.3 Gás carbônico

O gás carbônico é um ingrediente básico do refrigerante. Sua pureza é de suma importância, pois pode ser um veículo de deterioração aromática. Exige-se usualmente a pureza mínima de 99,9% e total inexistência de óleo (Santana,1995). O CO₂ é um gás incolor, pouco reativo, não tóxico, sem sabor, quando em solução aquosa apresenta sabor ácido e um ligeiro odor picante, resultante da formação do ácido carbônico (Santana,1995).



O CO₂ é o único gás apropriado para a produção de refrigerante; sua solubilidade é elevada fazendo com que se retenha dissolvido na bebida e permitindo a liberação de um atrativo de bolhas (Varnan e Sutherland., 1997). De acordo com Tocchini e Nisida (1995), a carbonatação confere "vida" ao refrigerante. O dióxido de carbono, como todo o gás, apresenta a solubilidade em água com função inversa à temperatura. Assim, quanto mais baixa for a temperatura, desde que acima do 0°C, maior será a solubilidade do gás na água (Tocchini e Nisida, 1995).

A unidade que mede o teor de CO₂ adotado pelos produtores de bebidas e engarrafadores, como padrão é o Volume, que é definido como a quantidade de CO₂ que um dado volume de água absorve à pressão atmosférica (760mmHg) e a 15,5 °C de temperatura. Um volume de CO₂ é solúvel em 0,6 volumes de água a 0°C (Tocchini e Nisida, 1995).

Tem-se vários tipos de carbonatador, segundo Tocchini e Nisida (1995), porém o mais usado nas indústrias de refrigerantes é o do tipo coluna de recheio utilizando bolinhas de vidro ou anéis de porcelana (não indicado pela sua porosidade e difícil limpeza).

Uma pressão constante do CO₂ no carbonatador é essencial para assegurar uma carbonatação uniforme da bebida (Carbonatação, s.n.t.).

O sistema de refrigeração deve ser operado de forma a manter a temperatura do produto na saída do carbonatador na faixa de 2-3°C (Santana, 1995).

4.2.3.4 Sucos

Os sucos naturais são extraídos diretamente das frutas e concentrados através de evaporadores a vácuo, apresentando teor de sólidos solúveis até dez vezes a sua concentração inicial. São conservados através de pasteurização ou adição de conservantes, como o benzoato de sódio. Para a manutenção de suas propriedades sensoriais os sucos concentrados devem ser armazenados em temperaturas que variam de 20°C negativos a 12°C (Santana,1995).

Sucos e polpa de frutas são comumente fluidos não-Newtonianos devido à alta concentração de macromoléculas como pectina, que afetam diretamente o comportamento reológico (Silva, 2000).

A produção de suco de acerola apresenta um rendimento da ordem de 80% segundo Gomez et al. (1999).

Na produção de sucos de frutas, uma das principais alterações deletérias são as reações de escurecimento não enzimático, dentre as quais temos a rota de escurecimento do ácido ascórbico que é favorecida pelas operações envolvidas no processo de produção como os longos períodos de armazenamento (Aragão et al., 2001).

A oxidação da vitamina C leva à formação de furaldeídos, compostos que polimerizam-se facilmente, com formação de pigmentos escuros e aceleram a degradação de antocianinas (Bobbio e Bobbio, 1989).

O suco de acerola pode ser consumido diretamente ou na forma de néctar. Pode ser usado no preparo de alimentos dietéticos ou para realçar o teor de vitamina C de outros sucos de frutas. Neste caso, é usado na proporção de 1/25 à 1/30 para não modificar as características organolépticas da fruta inicial (Gomez et al., 1999).

4.2.3.4.1 Atividade enzimática em sucos

A pectina metil esterase (PME) que está presente em tecidos das plantas e desenvolve um importante papel no funcionamento de seu metabolismo (Assis, et al., 2001) É a enzima responsável pela hidrólise da pectina presente em sucos de frutas cítricas, que causam a perda da turbidez dos sucos e a geleificação da pectina em sucos concentrados (Basak e Ramaswamy, 1996).

A turbidez é um importante parâmetro no processamento de citrus, tendo-se atribuído a sua perda em sucos cítricos, devido à esterificação por PME. A pectina metil esterase remove o grupo metil de substâncias pécticas metilada e o resultado da interação entre ácido péctico e os ions cálcio, resultam em um complexo de pectato de cálcio, causando

perda da turbidez e como consequência a clarificação do suco (Assis et al., 2000). O controle da PME é de fundamental importância para a preservação da turbidez dos sucos de frutas cítricas (Assis et al., 2001).

O tratamento térmico é a tecnologia mais comum que tem sido usada para resolver indesejáveis problemas como a clarificação dos sucos. Na indústria o tempo de inativação da PME tem sido de 1 minuto a 90°C, porém, sabe-se que o tratamento adequado a quente pode afetar o “flavour” dos sucos (Assis et al., 2000). A inativação da PME é comumente usada como um indicador da eficácia do processo de pasteurização; em geral a reação de inativação da PME apresenta-se de reação de primeira ordem (Basak e Ramaswamy, 1996).

Segundo Janser (1997) quando se faz uso de misturas de enzimas para tratar sucos como o da acerola é possível obter altos rendimentos, em termos de conteúdo de vitamina C, aroma, cor mais vermelha e “flavour”. Quando o suco está despectinizado, para obter melhores resultados pode-se centrifugar, filtrar e pasteurizar, porém agentes finalizantes são necessários, tais como gelatinas, bentonita e sílica sol.

4.3 Aditivos

4.3.1 Corante

Corante é a substância ou mistura de substâncias que possuem a propriedade de conferir ou intensificar a coloração de alimentos e bebidas (Santana, 1995).

A cor dos refrigerantes obtidos por substâncias corantes é o fator de maior importância para atração do consumidor (Tocchini e Nisida, 1995 e Havlíková et al. 1985).

Pode-se classificar os corantes em: naturais (obtido de produto vegetal ou animal); artificiais (obtido por síntese orgânica) e sintéticos (pigmentos) (Tocchini e Nisida, 1995).

Os corantes naturais não são usados para preparação de refrigerantes, pois são instáveis ao pH do meio, as condições de temperatura e a incidência de luz, além de se precisar de maiores concentrações do corante natural para obter o mesmo efeito dos corantes artificiais ou sintéticos (Tocchini e Nisida, 1995). Já Havlíková et al. (1985) citaram que pigmentos naturais, como as betacianinas -“Carmim”, podiam ser usados, porém não se podia tratá-los termicamente sendo sua estabilidade de apenas 10 dias.

Segundo Tocchini e Nisida (1995) o único corante artificial existente é o caramelo. É utilizado na produção de refrigerantes do tipo guaraná, cola e maçã.

Existem vários corantes sintéticos no mercado, porém apenas 12 são permitidos para o uso em bebidas, dentre eles 6 se prestam ao uso em refrigerantes: azul número 1; vermelho números 1, 2 e 4 e amarelo números 5 e 6. Os demais não são adequados devido a várias razões como não resistência a luz (azul 2) e precipitação em meio ácido como o vermelho número 3 (Tocchini e Nisida, 1995 e Josse, 1987).

4.3.2 Aromatizante

Aromatizante é a substância que confere e intensifica o aroma dos alimentos. Dentre suas funções, cabe salientar a de potencializar o sabor de ingredientes básicos (Antunes e Canhos, s.d.).

Hidrocoloides podem influenciar na taxa de intensidade do aroma (Hansson et al., 2001). O uso da pectina em alimentos pode ocasionar uma diminuição na intensidade de aroma (flavour) segundo Lundgren et al. (1986), Etievant (1991) citados por (Hansson et al., 2001).

4.4 Conservantes

O método para conservação de refrigerantes é ditado basicamente por: sua qualidade organoléptica (aroma, cor, textura e turbidez), processamento (especialmente tratamento a quente) e o uso de conservantes (Baird e Kooiman, 1980).

4.4.1 Benzoatos

Os benzoatos, utilizados a partir do final do século XIX, são os conservadores com mais longa história de utilização em alimentos. Devido ao seu baixo custo, facilidade de incorporação nos produtos, ausência de cor e relativa baixa toxicidade, o ácido benzóico pode ser empregado puro ou como sal de sódio, cálcio ou potássio (Tfouni e Toledo 2001). Os benzoatos são mais indicados para a conservação de alimentos ácidos ou

acidificados, tais como suco de frutas e bebidas carbonatadas entre outros. Os benzoatos são ativos contra bolores, leveduras e bactérias, mas normalmente não são recomendados para controle de bactérias, devido à baixa atividade acima de pH 4,5 onde o principal tipo de deterioração é a bacteriana (Antunes e Canhos, s.d., Giese 1995 e Tfouni e Toledo 2001). Os benzoatos são geralmente reconhecidos como inócuos para utilização em alimentos, mas um nível máximo de 0,1% é estabelecido (recomendado para refrigerantes), quando utilizado à maiores concentrações, acarretam o efeito adverso da sensação de queimação das mucosas bucais segundo Antunes e Canhos, s.d e Giese, 1995. Conforme Tfouni e Toledo (2001) o benzoato de sódio não se acumula no organismo. Ele combina-se com a glicina e transforma-se em ácido hipúrico, que é facilmente excretado por via renal, sendo este um dos motivos da ausência de efeitos tóxicos (Tfouni e Toledo 2001). Foram realizados alguns testes com animais e o ser humano sobre a toxicidade do benzoato de sódio e observou-se que para o homem não obteve-se nenhum efeito com as seguintes concentrações: 1g/dia por 3 meses; 12g/dia por 14 dias; 0,3-4,0g/dia por 60-100dias e 5-10g/dias por vários dias (Tfouni e Toledo 2001).

O benzoato de sódio é o conservante mais comumente usado nos EUA para refrigerantes (Giese, 1995).

Aragão et al. (2001), trabalhando com suco de acerola, utilizaram o benzoato de sódio como um dos conservadores, na proporção de 1000 ppm (0,1%), e também realizou a pasteurização do suco em banho de imersão a 90°C por 2 minutos, seguido de o resfriamento em banho de gelo visando garantir a estabilidade microbiológica. Resultou em estabilidade de 217 dias, armazenados a temperatura ambiente.

4.4.2 Sorbatos

O emprego de sorbatos como conservador de alimentos é bastante amplo em todo o mundo, devido ao fato de ele não interferir no sabor e ser fisiologicamente inócuo. Pode ser empregado como ácido sórbico puro ou como sal de sódio, cálcio ou potássio (Tfouni e Toledo 2001).

São eficientes principalmente contra fungos e leveduras, embora atuem contra uma variedade ampla de bactérias. A principal desvantagem do sorbato é seu custo relativamente maior que o dos benzoatos. Em teste de toxicidade crônica, o ácido sórbico mostrou-se não carcinogênico (Tfouni e Toledo, 2001).

4.5 Pasteurização

O objetivo do tratamento térmico é a destruição de microrganismos capazes de se desenvolverem no produto em condições normais de estocagem. Na pasteurização, o refrigerante é aquecido por um período específico de tempo e temperatura abaixo de 100°C (Baird e Kooiman, 1980 e Fellows, 1994).

No processo de pasteurização os esporos não são destruídos. Uma parcela de microrganismos deterioradores sobrevive à pasteurização, assim normalmente associam-se ao tratamento térmico um processo complementar de conservação, que pode ser: a refrigeração; a adição de conservantes; a embalagem em condições anaeróbias e até mesmo a fermentação com microrganismo. A vida de prateleira do alimento pasteurizado é em função

do tratamento térmico realizado, do processo complementar de conservação utilizado e das condições de estocagem (Teixeira Neto e Jardim, 1996).

Alimentos pasteurizados tem vida de prateleira geralmente curta (Teixeira Neto e Jardim, 1996), são apenas alguns dias ou semanas, quando comparados com produtos esterilizados que são meses segundo Fellows (1994).

Alguns alimentos líquidos como cerveja e suco de frutas, são pasteurizados já envasados. Os alimentos envasados em recipiente de vidro são pasteurizados com água quente para evitar o risco de choque térmico conforme Fellows (1994).

Para refrigerantes de laranja, contendo 2,5 v/v de CO₂, o tempo de pasteurização varia de 10 a 20 minutos e a temperatura de 65 a 70°C. O binômio tempo - temperatura na pasteurização de refrigerante depende do pH do mesmo; assim, refrigerantes com maior acidez e menor pH necessita de tratamento térmico menor (Baird e Kooiman, 1980).

Sabores indesejáveis podem ser produzidos por processamento térmico e prolongada estocagem do produto processado (Nagi et al 1989 citado por Santos 1997).

Em muitos tratamentos térmicos, como é o caso da pasteurização, utiliza-se um cálculo para definir o valor de pasteurização equivalente (VPE). Esse valor equivale ao aquecimento de um determinado produto a 70°C por 1 minuto (Ramaswamy e Abbatemarco, 1996). A fórmula usada para este cálculo, encontra-se a seguir:

$$VPE = 10^{\left(\frac{T-T_0}{Z}\right)}$$

T = temperatura, em um minuto;

To = temperatura inicial;

Z = é o aumento da temperatura necessário para que o tempo de redução decimal "D" diminua 10 vezes

Em estudos realizados por Malcher e Santos (2001), a polpa de acerola foi submetida ao tratamento térmico durante 15 minutos em banho-maria com duas temperaturas, um lote a 90°C e outro a 95°C, com o objetivo de selecionar a melhor pasteurização, levando-se em consideração a característica de cada produto final, certificando a eficácia do tratamento térmico empregado, avaliando através de análise microbiológica, esterilidade comercial, manutenção máxima de vitamina C e análise sensorial. Observou-se eficiência na inibição do desenvolvimento de microrganismos nos produtos pasteurizados. Na análise sensorial obteve-se preferência do suco pasteurizado a 95°C.

Segundo Gomez et al. (1999) em um estudo realizado com suco de acerola, após a clarificação por filtração ou centrifugação, o suco passa por uma "flash" pasteurização para limitar as perdas de vitamina C. Durante a pasteurização (45s à 88°C) ocorre uma perda de 2% do teor de vitamina C (Gomez et al, 1999 e Sanches-Nieva 1995 citado por Oliva et al., 1996).

O processo de aquecimento provoca também alterações da cor vermelha para laranja avermelhado ou amarelo. Estas alterações podem estar relacionadas a decomposição de pigmentos, provavelmente antocianinas que exibem um comportamento similar quando aquecidas em presença de ácido ascórbico (Oliva et al., 1996)

Segundo Carvalho e Guerra (1995), o suco de acerola apresenta perdas no teor de ácido ascórbico durante o armazenamento; o suco pasteurizado (70°C/15 min.) e armazenado à temperatura ambiente apresentou perdas de ácido ascórbico de 26,9% aos 30 dias de armazenamento e, 30,7% e 33,8% respectivamente aos 90 e 150 dias.

4.6 Microrganismos e refrigerantes

Os padrões de microbiologia para refrigerantes no Brasil estão regulamentados por duas portarias, a Portaria nº 01/87 e a Portaria nº 410/74. A Portaria nº 01/87, estabelece a ausência de coliformes totais em 50 mL e o limite de 20 bolores e leveduras por mL. A Portaria nº 410/74, estabelece a ausência de microrganismos patogênicos e a ausência de bactérias coliformes em 5 porções de 10mL (Silva et al., 1997).

Dentre os microrganismos, a levedura é o grupo de preocupação em refrigerante, pois elas tem tolerância a acidez dos refrigerantes e ainda podem se multiplicar sob condições anaeróbias. Os mofos podem também se desenvolver em ambientes ácidos, porém necessitam de oxigênio dissolvido, que não deve existir em refrigerantes. Bactérias lácticas e bactérias acéticas podem se desenvolver em certos níveis de pH ácido (Massa et al., 1998)

Muitos gêneros e espécies de microrganismos, incluindo bactérias, leveduras e bolores, ocorrem na matéria prima que são usadas na manufatura do refrigerante. Embora, raramente refrigerantes apresentam riscos a saúde pública, vários ingredientes usados em seu processo podem conter pequenos números de microrganismos contaminantes patogênicos ou estranhos (Baird e Kooiman, 1980).

As frutas usadas no processo de fabricação de refrigerantes podem conter alguns tipos de microrganismos contaminantes conforme descritos em Baird e Kooiman, 1980. Os tipos de leveduras presentes nas bebidas que fazem uso de frutas cítricas são: *Candida*; *Zygosaccharomyces*; *Hanseniaspora*; *Saccharomyces* e espécies de *Pichia*. Os bolores que são encontrados com mais frequência em sucos de frutas são: *Penicillium*;

Byssochlamys; Aspergillus; Paecilomyces; Mucor; Cladosporium; Fusarium e Botrytis. Muitos gêneros de bactérias tem sido isoladas de frutas frescas e seus sucos entre elas podemos citar: bactérias lácteas (*Lactobacillus* e *Leuconostoc*); bactérias acéticas (*Gluconobacter* e *Acetobacter*); e algumas bactérias formadoras de esporos como a *Bacillus coagulans* e *Clostridium butyricum* (Baird e Kooiman, 1980).

Nos refrigerantes são encontradas duas características que desfavorecem o crescimento de microrganismos, que são: acidez e gás carbônico. O ácido ascórbico pode, muitas vezes, ser adicionado por suas características antioxidantes: contudo, com tratamento de processamento a quente, pode iniciar um escurecimento e desestabilizar a cor (Giese 1995). A acidez presente em frutas ácidas usadas no processamento de refrigerantes resulta em valores de pH entre 2,0 e 4,5, que são os mesmos valores de pH encontrado em refrigerantes comerciais com conservante. Em bebidas carbonatadas, como refrigerantes, gás carbônico encontra-se em concentrações elevadas e com pouco oxigênio, dificultando assim o desenvolvimento de microrganismos (Baird e Kooiman, 1980 e Gieses, 1995).

Processos microbianos podem levar à formação de sabores residuais (“off-flavors”) descritos como aquecidos ou cozidos, onde os responsáveis por estes sabores indesejáveis ainda não foram identificados (Nagi et al. (1989) citado por Santos, 1997).

4.7 Aroma - “Flavor”

Conforme Stillman (1993) “flavor” é a soma de várias sensações que estimulam os receptores de sabor e olfato, o sistema nervoso e tato. Segundo Giese (1995)

“flavors” é usualmente definido como a somatória de impressões sensoriais, tais como: sabor, odor, frescor, quentura, adstringência, entre outros.

Existe demanda do mercado para “flavors” obtidos de fontes naturais (Giese, 1995).

Algumas investigações das interações entre doçura e “flavor” foram realizadas em refrigerantes. Um aumento (de 0 a 60% m/v) nas concentrações de sacarose aumentou também os compostos de “flavor” (Hansson et al., 2001).

Segundo Hansson et al. (2001), os hidrocolóides podem influenciar na taxa e na intensidade do realce do “flavor”. Em refrigerantes os hidrocolóides são muitas vezes usados para: espessar, melhorar a “sensação na boca”, mascarar os “flavors” e ainda para melhorar a retenção da carbonatação conforme Dziezak (1989) citado por Hansson et al., 2001. Em refrigerante com turbidez natural, os hidrocoloides, podem também ser usados como agentes de ajuste de densidade e usado como preventivo contra a precipitação da turbidez (Hansson et al., 2001).

O “flavor” preferido, para refrigerantes, no mundo é o de cola, com duas exceções, na China e em Taiwan, a preferência é por laranja e sarsaparilla respectivamente. O segundo preferido nos países do Oceano Pacífico, é o de lima-limão, já nos países Europeus o segundo é o de laranja, com exceção dos países da América Latina que preferem uma variedade de gostos (Sinki, 1994).

A influência da cor no “flavor” de bebidas foi pesquisado por Stillman (1993) usando amostras de bebidas aromatizadas artificialmente com aroma de laranja e framboesa, e descolorindo ou colorindo com vermelho, laranja e verde, observou-se que a cor teve significativa influência na identificação de ambas as amostras. Quando as amostras

tinham cores diferentes os provadores erravam mais as amostras com “flavor” de framboesa do que as de laranja. A influência da cor foi particularmente salientada por causa do sabor, quando a cor da bebida poderia ser imprópria com o seu “flavor” (Stillman, 1993).

Vendramini e Trugo (2000), analisaram os compostos voláteis de frutas de acerola em diferentes estágios de maturação, baseados na cor da fruta. Entre os componentes identificados nos três estágios de maturação estão 15 compostos não relatados anteriormente para a acerola: 3-hidroxi-2-butanona, 2-acetato-metil-propil, (E)-Z-octenol, fenol-2,6 di (1,1 dimetil etil) 4 metil, 3,4-didehidro β -ionol, epóxi- β -ionone, heptadecano, ácido tetradecanóico, γ -tetradecalactona, ácido hexadecanóico, etil hexanoato, ácido octadecanóico, ácido eicosanóico, ácido pentadecanóico e 1-octadecanol.

Mais de 65% dos compostos detectados na acerola madura eram ésteres (29%), álcoois (23%) e cetonas (16%). Esses grupos de compostos contribuem para a o aroma frutoso. Alguns ácidos graxos foram identificados na fração volátil da acerola, esses compostos podem estar presentes na fração de óleo da polpa de acerola. Os ácidos hexadecanóico, octadecanóico e eicosanóico foram encontrados nos três estágios de maturação, com o primeiro em quantidades relativamente maiores que os outros. O ácido tetradecanóico também foi encontrado nos três estágios, mas diminuiu gradualmente durante a maturação (Vendramini e Trugo, 2000).

Boulangier e Crouzet (2001), analisaram os componentes de sabor livres e ligados a glicosídeos da fruta de acerola. O aroma potencial, constituído por compostos de aroma ligados a glicosídeos, tem sido relatado em muitas frutas, incluindo frutas tropicais. Esses compostos podem ser perdidos durante o pré-tratamento industrial ou processamento das frutas, e gerar modificações ou um fortalecimento do aroma. A fração

volátil foi constituída de 9 álcoois, 21 ésteres, sete compostos aromáticos, dois compostos terpênicos, dois norisoprenóides, 3 ácidos e duas lactonas. Entre os 46 compostos identificados, 16 foram relatados pela primeira vez na acerola. Os componentes mais abundantes foram os álcoois alifáticos, sendo que os compostos 3-metil-but-3-en-1-ol, 3-metil-butan-1-ol e 2-metil-butan-1-ol foram predominantes. O primeiro composto foi detectado por Schippa et al. (1993) como o principal componente na acerola. O catabolismo de aminoácidos é a origem dos 3- e 2-metil-butan-1-ol e seus ésteres (Boulanger e Crouzet, 2001).

O éster difosfato do álcool 3-metil-butan-1-ol é conhecido como uma chave intermediária na biossíntese de terpeno. As pequenas quantidades de compostos terpênicos e a grande quantidade de 3-metil-but-1-ol detectados na acerola, podem ser devido ao fato deste caminho terpênico não ser efetivo na acerola. Diferente de outras frutas como o cupuaçu, camu-camu e umbu-cajá, os compostos terpênicos estão presentes em uma quantidade muito pequena. Somente linalol e limoneno foram detectados. (Boulanger e Crouzet, 2001).

Qualitativamente, os compostos mais abundantes foram os ésteres. Esta classe de compostos deve participar no aroma frutoso e doce da acerola, e em outras frutas tropicais como o cupuaçu, manga e abacaxi. O 2-feniletanol representa mais que 80% dos compostos aromáticos. Pode-se assumir que este composto participa do aroma floral da acerola (Boulanger e Crouzet, 2001).

Os aminoácidos são precursores de uma série de voláteis formados durante a maturação, podendo afetar as características sensoriais da fruta, devido à formação de voláteis com impacto de aroma como o acetato de etila, (Z)-3-acetato de hexenil, (E)-Z-acetato de hexenil, acetato de 2-metil propil. Estes ésteres foram identificados em acerolas

maduras e em estágio intermediário de maturidade, mas não em frutas imaturas, indicando sua provável formação da quebra de proteínas (Vendramini e Trugo, 2000).

A fim de estudar os componentes ligados a glicosídeos, Boulanger e Crouzet (2001), realizaram um tratamento enzimático da fração glicosídica, para que os componentes voláteis fossem liberados. Entre as 42 agliconas identificadas na polpa de acerola, 17 estavam na forma livre. Esta fração foi caracterizada por 13 compostos norisoprenóides, 11 componentes aromáticos, oito álcoois alifáticos, quatro hidróxi-ésteres, três compostos terpênicos, duas lactonas e um ácido.

Como na fração volátil, os álcoois foram quantitativamente os compostos mais importantes e o 3-metil-but-3-en-1-ol foi o mais abundante. A detecção dessa molécula na forma ligada está de acordo com o fato deste composto ser uma chave intermediária em várias vias de biossíntese. A liberação de álcoois pode reforçar os aromas frutuosos e verde da acerola (Boulanger e Crouzet, 2001).

Os norisoprenóides foram encontrados, principalmente, na fração glicosídica e são qualitativamente a classe mais importante. Os compostos norisoprenóides são muito odoríferos. Esta classe é também detectada na fração ligada a glicosídeos de muitas frutas: uva, maçã, framboesa e maracujá. A liberação de norisoprenóides pode intensificar a nota frutosa da acerola direta ou indiretamente (Boulanger e Crouzet, 2001).

4.8 Refrigerante de acerola

Não foi encontrado qualquer trabalho sobre esse assunto na literatura especializada.

5 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na planta piloto de refrigerantes (Figura 1), do Laboratório de Bebidas da Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP - Campus de Botucatu.



Figura 1. Planta piloto de refrigerante

5.1 Material

As matérias primas usadas na produção de refrigerante foram: água, açúcar, acerola na forma de fruta e gás carbônico.

A água utilizada no processo de fabricação foi a da rede municipal (SABESP) e filtrada em filtro duplo de carvão ativo, conforme Figura 2.



Figura 2. Filtros de carvão ativo para tratamento da água do processo.

O açúcar empregado foi o cristal, parte doado pela empresa Zillo Lorenzetti e parte (da mesma marca) adquirido no mercado de Botucatu.

A fruta de acerola foi fornecida por produtor da região de Bauru (Agro I. Reis S/A), higienizada com solução de cloro a 10ppm, despulpada (Apêndice / item 9.1) e conservada em “freezer” comercial a 18°C negativos (Figura 3), com congelamento lento.



Figura 3. Estocagem das frutas em “freezer”.

O gás carbônico, com qualidade de grau alimentício, foi adquirido no mercado de Botucatu.

Foi usado aromatizante de acerola e os corantes amarelo crepúsculo e vermelho “bordeaux”, doados por empresas do ramo.

As garrafas usadas para acondicionar os refrigerantes foram as de vidro âmbar de 600mL, adquiridas no mercado de Botucatu. Essas passaram por processo de limpeza cáustica, com solução de hidróxido de sódio entre 1 a 2%, em seguida enxaguadas com água corrente da rede pública, até a retirada de todo resíduo de soda. Foram secas em estufa a 105°C por no mínimo de 12 horas. Vencido o tempo de secagem, as garrafas eram retiradas da estufa e vedadas com papel alumínio até o momento do engarrafamento. O arrolhamento definitivo das garrafas foi realizado com rolhas metálicas, doadas pela empresa Tapon Corona.

5.2 Métodos

O trabalho experimental foi dividido em duas fases: a) desenvolvimento das formulações e do protocolo de produção; b) produção dos refrigerantes.

5.2.1 Planejamento experimental

Foram desenvolvidos três tipos de refrigerantes a base de acerola, variando o teor de extrato (10, 11 e 12 °Brix) na sua formulação.

Os refrigerantes foram conservados por dois processos diferentes: a) pasteurização e b) conservante químico. Dessa forma, houve 6 tratamentos com três repetições, totalizando 18 parcelas experimentais.

Definiu-se alguns parâmetros para adequar o processo e a planta piloto de refrigerantes com a realização de pré testes (Apêndice / item 9), conforme se segue:

a) produzir refrigerantes com açúcar cristal, visto que, no pré teste com açúcar cristal e açúcar líquido, não se observou diferença sensorial entre eles, sendo que o primeiro é de mais fácil manuseio e conservação (Apêndice / item 9.2).

b) usar aromatizante de acerola (4mL/10L de refrigerante) e os corantes amarelo crepúsculo (0,04g/L de refrigerante) e vermelho “bordeaux” (0,006g/L de refrigerante), conforme Apêndice / item 9.3.

c) carbonatar o xarope composto durante 1,5 horas, à temperatura de 1 a 2°C e contrapressão de 2,5 kgf/cm² (Apêndice / item 9.4).

d) utilizar o benzoato de sódio na concentração de 0,1% para os refrigerantes conservados quimicamente (Apêndice / item 9.7).

e) pasteurizar os refrigerantes com 50VPE (Apêndice / item 9.6).

5.2.2 Processamento

O processamento é apresentado sucintamente, na forma de um fluxograma de operações unitárias, conforme Figura 4.

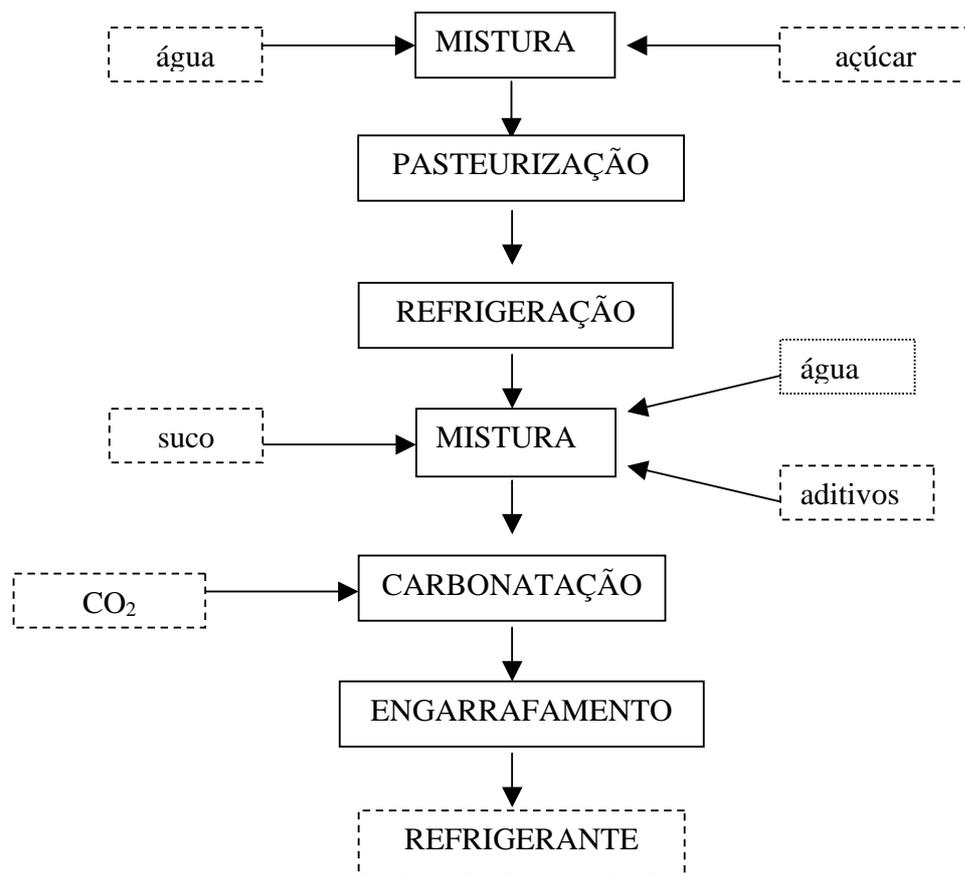


Figura 4. Fluxograma de operações unitárias da fabricação de refrigerante.

5.2.3 Protocolo de fabricação

- Misturar, num recipiente plástico de grau alimentício, o açúcar cristal com água decaída para obter o xarope simples a 60 °Brix;
- Aquecer o xarope simples a 85°C / 30 minutos, no tanque cozedor de xarope;
- Refrigerar o xarope simples para a temperatura de 10 °C, em “freezer” comercial;
- Misturar, no recipiente plástico, o xarope simples com suco de acerola, resultando no xarope composto. A proporção de suco de acerola usada foi de 12% em relação à massa final de refrigerante (Figura 5);



Figura 5. Componentes utilizados no processo de fabricação do refrigerante.

- Adicionar, ao xarope composto, o aromatizante de acerola e os corantes;
- Diluir, no tanque de carbonatação, o xarope composto com água declorada até a concentração desejada de extrato (°Brix), para totalizar um volume final de 15 litros de refrigerante. Adicionar o conservante, benzoato de sódio, quando necessário;
- Carbonatar o xarope composto;
- Acondicionar o refrigerante. Durante essa operação, descartar o primeiro e o último litro de refrigerante carbonatado contido no tanque de carbonatação;
- Pasteurizar o refrigerante, quando necessário.

5.2.4 Análises físico-químicas e microbiológicas

No açúcar cristal foram realizadas análises de teor de sacarose (Pol), umidade, cinzas, cor, turbidez, sulfito e degustação (Laudo do Grupo Zillo Lorenzetti).

A água foi analisada físico-química e microbiologicamente no decorrer dos pré testes e no início dos trabalhos experimentais, pela SABESP – Divisão de Controle Sanitário de Botucatu, que emitiu um laudo com as seguintes análises: pH; alcalinidade de bicarbonato; ferro; turbidez; coliformes totais e fecais; e degustação. Durante o decorrer dos testes foi analisada, através de “kit”, a presença de cloro na água coletada após o filtro duplo de carvão ativo, caso aparecesse traços de cloro na água, os cartuchos filtrantes eram substituídos.

As análises de acerola ocorreram em dois momentos diferentes: primeiro lote, acerolas usadas nos pré testes; segundo lote, acerolas selecionadas para a

realização dos testes planejados no projeto. A fruta fresca foi caracterizada através das seguintes análises: °Brix; pH; acidez titulável (gramas ácido cítrico / 100mL de suco); vitamina C (mg / 100mL de suco); umidade (%); açúcares redutores – AR (g de glicose / 100 mL de suco) e açúcares redutores totais - ART (g de glicose / 100 mL de suco) realizados conforme Instituto Adolfo Lutz (1985) e degustação. Durante o despolpamento da fruta, foram retiradas amostras compostas de polpa de frutas frescas (50g de cada embalagem plástica de polpa a congelar num total de 10 embalagens de aproximadamente 5 kg). Em seguida, numa centrífuga de bancada, foram realizadas a centrifugação da polpa e foi usado o sobrenadante para realizar todas as análises, com exceção da análise de umidade, para a qual foi utilizada a polpa integral. As análises foram realizadas com duas repetições.

No gás carbônico, foi feito teste de degustação através de água carbonatada.

No refrigerante foram analisados o teor de extrato (°Brix), acidez titulável, pH (Instituto Adolfo Lutz, 1985), vitamina C (Silva,1999), gás carbônico (American Society of Brewing Chemists, 1958) e também a relação °Brix / acidez titulável – “ratio”. A análise microbiológica foi realizada através de contagem de colônias de bolores e levedura em placa de Petri, e teste de coliformes totais, apresentados com valores médios de três repetições de cada amostra de refrigerante, segundo Silva et al. (1997).

5.2.5 Análise de aroma

5.2.5.1 Isolamento de compostos voláteis

Os compostos voláteis dos refrigerantes de acerola foram isolados através de adsorção em polímero poroso pela técnica de enriquecimento de compostos voláteis do “headspace”, conforme método descrito por Franco e Rodrigues-Amaya (1983), ilustrado na Figura 6. As análises foram realizadas com 300g de amostra.

Foi utilizado o polímero Porapak Q, 80-100 *mesh* (Waters Associates), após condicionamento a 170°C por 48 horas, sob fluxo de nitrogênio ultra puro a 30 mL/min. Após cada análise, a limpeza do polímero foi realizada com solvente e o condicionamento foi feito nas mesmas condições.

Os compostos voláteis foram capturados sob vácuo de aproximadamente 70mmHg, e posteriormente eluídos do polímero com 300µL de solvente (grau análise de resíduos), dando origem ao isolado. Os compostos voláteis foram capturados por 4 horas e o solvente usado foi o diclorometano.

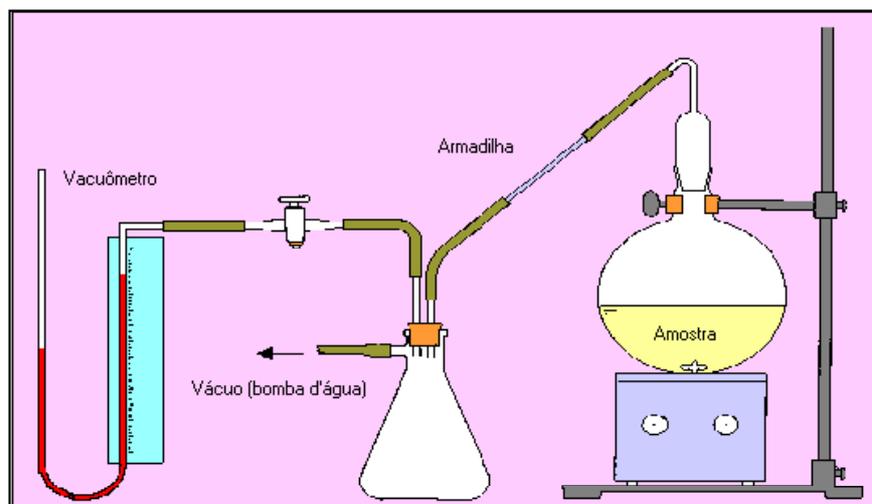


Figura 6. Sistema de captura dos compostos voláteis do “headspace”.

5.2.5.2 Análise cromatográfica dos compostos voláteis

Os isolados foram analisados por cromatografia gasosa de alta resolução, em cromatógrafo Shimadzu modelo GC – 17A (Figura 7) acoplado a um microcomputador equipado com o programa Class CG 10-CG-DIC. Com as seguintes condições cromatográficas:

- A coluna capilar de fase ligada foi DB-Wax JW Scientific, com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e espessura do filme de fase ligada de 0,5 μm .
- Gás de arraste: Hélio a 1,3 mL/min.
- Injetor: “splitless” a 200°C.
- Detector de Ionização de Chama (DIC) a 250°C.
- Programa da coluna: temperatura inicial de 50°C mantida por 10 minutos, elevação numa razão de 3°C/min até atingir 200°C, mantém por 10min.



Figura 7. Cromatógrafo Shimadzu modelo GC – 17A

5.2.6 Análise sensorial

As análises sensoriais foram realizadas no Laboratório de Bebidas - UNESP Botucatu, sob luz vermelha conforme apresentada na Figura 8.

Para um mesmo valor de °Brix, os refrigerantes conservados por pasteurização e por tratamento químico foram comparados sensorialmente através do teste triangular (teste de diferença) e do teste de escala hedônica estruturada (teste de preferência). Para um mesmo método de conservação, os refrigerantes produzidos com diferentes °Brix foram avaliados sensorialmente pelo teste de escala hedônica estruturada, de acordo com Moraes (1993). As planilhas de análise sensorial encontram-se no Apêndice / item 9.11 e 9.12.



Figura 8 . Cabine de análise sensorial.

5.2.7 Vida de prateleira (estabilidade)

Foi determinada a partir de avaliação sensorial (aparência, odor e sabor) e microbiológica (coliformes totais, bolores e leveduras) para os refrigerantes quimicamente preservados. Já, para os refrigerantes pasteurizados, foram estudadas alterações sensoriais, físicas e químicas (Silva et al., 1997 e Mori, 1996), conforme pode-se observar na Figura 9.



Figura 9. Refrigerantes conservados por pasteurização e por benzoato de sódio.

5.2.8 Avaliação econômica

A avaliação econômica foi realizada através do cálculo do custo médio de produção (Hoffmann et al., 1981) de refrigerante.

Foram utilizados conceitos de custos variáveis e fixos como definidos pela teoria econômica, segundo Varian (1996) citado por Moreira e Perosa (1999). O custo variável é definido como aqueles que aumentam (ou diminuem) com o aumento (ou redução) do volume de produção. Essa categoria de custos está associada ao capital de giro (ou circulante) necessário à produção.

Os custos de produção foram calculados a partir das despesas específicas (Hoffmann et al., 1981), ou seja, aquelas diretamente relacionadas com a produção. As despesas gerais (Hoffmann et al., 1981), isto é, aquelas que se referem à empresa como um todo não foram consideradas.

As despesas específicas foram calculadas tomando por base uma batelada, ou seja, um ciclo de operação, de quatro horas produzindo 15 litros dia, executado no Laboratório de Bebidas da FCA – UNESP – Campus de Botucatu.

Foram constituídas por:

- a. Matéria-prima: água, açúcar, acerola fruta, gás carbônico;
- b. Mão-de-obra: técnico de laboratório da UNESP;
- c. Componentes de energia (elétrica e térmica);
- d. Equipamentos: cozedor de xarope simples, misturador, carbonatador, fogão;

Os preços das matérias-primas foram levantados em fornecedores desses produtos. O custo total de cada matéria-prima foi dado pela quantidade e seu preço no mercado.

O custo da energia elétrica foi calculado tomando por base o consumo (kW.h) do motor e da resistência associado a cada equipamento. O preço do “kW.h”, foi fornecido pela Companhia Paulista de Força e Luz (CPFL).

Os custos dos equipamentos foram obtidos através depreciação e juros associados à utilização de cada equipamento.

A depreciação anual dos equipamentos foi calculada pelo método linear, de acordo com Hoffman et al (1981):

$$D_a = \frac{C_i - C_f}{N}$$

Onde:

D_a = depreciação, R\$ / ano;

C_i = Custo inicial do equipamento, R\$;

C_f = Custo final do equipamento, R\$

N = vida útil do equipamento, anos.

Os juros serão calculados sobre o valor médio do capital (equipamento) empregado, de acordo com Hoffmann et al. (1981):

$$J = \frac{Ci + Cf}{2} * 0,115$$

Onde:

J = juros sobre capital empregado, R\$ / ano;

Ci = Custo inicial do equipamento, R\$;

Cf = Custo final do equipamento, R\$;

0,115 = taxa de juros real de 11,5% ao ano praticado pelo Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES) para Projetos Agroindustriais.

Observa-se no Apêndice / item 9.10 os dados para os cálculos da avaliação econômica.

5.2.9 Análise estatística dos resultados

Na análise química dos refrigerantes, os resultados foram comparados em função do processamento (pasteurização x conservante químico) e da formulação (°Brix) através de análise estatística descritiva. A comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. Na análise sensorial, para o teste triangular foi usado tabela estatística própria (European Brewery Convention, 1987) e para o teste de escala hedônica os resultados foram analisados pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade (Gomes,1976).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Resultados das análises das matérias-primas

6.1.1 Acerola

O Quadro 5 mostra os resultados da análise físico-química da acerola do primeiro lote.

Quadro 5. Análises do primeiro lote de acerola.

| Análises | °Brix | pH | Acidez % m/v | Vitamina C mg/100mL | Umidade % m/m | AR % m/v | ART % m/v |
|---------------|------------|-------------|-----------------|------------------------|------------------|-------------|--------------|
| Repetição 1 | 6,2 | 3,19 | 0,78 | 1.515 | 92,06 | 2,53 | 5,10 |
| Repetição 2 | 6,2 | 3,19 | 0,76 | 1.511 | 92,10 | 2,47 | 5,16 |
| Médias | 6,2 | 3,19 | 0,77 | 1.513 | 92,08 | 2,50 | 5,13 |

No teste de degustação, a fruta apresentou sabor e aroma característicos e cor avermelhada (casca e suco).

Os resultados da análise físico-química da acerola do segundo lote encontram-se no Quadro 6.

Quadro 6. Análise do segundo lote de acerola.

| Análises | °Brix | pH | Acidez % m/v | Vitamina C mg/100mL | Umidade % m/m | AR % m/v | ART % m/v |
|---------------|------------|-------------|-----------------|------------------------|------------------|-------------|--------------|
| Repetição1 | 6,0 | 3,36 | 0,98 | 1.904 | 91,95 | 2,05 | 5,90 |
| Repetição2 | 6,1 | 3,36 | 1,05 | 1.933 | 92,05 | 2,15 | 5,95 |
| Médias | 6,1 | 3,36 | 1,02 | 1.918 | 92,00 | 2,10 | 5,93 |

Observa-se que, entre o primeiro e o segundo lote de frutas, o °Brix praticamente não variou, estando próximo da média encontrada por Oliveira et al. (1999) que foi de 6,5 °Brix, encontrando-se de acordo com os Padrões de Identidade e Qualidade (PQI) para polpa de acerola, que estabelece um mínimo de 5,5 °Brix, (Brasil, 1999).

O pH teve um pequeno aumento no segundo lote (3,36) em relação ao primeiro lote (3,19).

A acidez foi mais alta no segundo lote (1,02%) do que no primeiro (0,77%); isto pode ser explicado em função do aumento do teor de vitamina C encontrado no segundo lote (1.918 mg/100mL) em relação ao primeiro lote (1.513 mg/100mL). Entre a vitamina C (ácido ascórbico) e a acidez titulável pode ser estabelecida uma relação direta, porém não linear, o que explica a presença de outros ácidos, segundo Oliveira et al. (1999).

O teor de matéria seca encontrado foi de 8%, estando de acordo com o PQI da polpa de acerola, que recomenda o mínimo de 6,5%.

Os valores de AR e ART mostrados nos Quadros 5 e 6 indicam que aproximadamente metade dos açúcares da acerola é formada por sacarose e a outra parte por açúcares redutores (glicose e/ou frutose). Oliveira et al. (1999), analisando acerola, encontraram valores que variaram de 2,05 a 4,95% de AR.

De uma forma geral, todos os itens analisados atenderam ao PQI para polpa de acerola, (Brasil, 1999).

6.1.2 Açúcar

O Quadro 7 ilustra as características físico-químicas do açúcar cristal.

Quadro 7. Análise do açúcar cristal

| | |
|--------------------------------------|-----------|
| Teor de sacarose (Pol) à 20°C | 99,7 °S |
| Cinzas | 0,02 % |
| Cor ICUMSA (420nm) | 10 U.I. |
| Turbidez | 31 U.I. |
| Sulfito (SO₂) | 7,5 mg/kg |
| Umidade | 0,02 % |

Degustação: sabor característico

As características físico-químicas do açúcar cristal usado na fabricação dos refrigerantes (Quadro 7) estão de acordo com os padrões de qualidade propostos por Tocchini e Nisida (2000a) e Santana (1995).

6.1.3 Água

Os resultados das análises da água, realizadas pela SABESP de Botucatu; são mostrados no Quadro 8.

Quadro 8. Análise da água

| | |
|------------------------------------|-----------------------------|
| pH | 7,7 |
| Turbidez | 0,50 NTU |
| Alcalinidade de bicarbonato | 19,0mg CaCO ₃ /L |
| Ferro | < 0,02 mg/L |
| Cloro | Ausente |
| Coliformes totais | < 1NMP/100mL |
| Coliformes fecais | < 1NMP/100mL |

A água apresentou sabor normal de potável ao ser degustada.

Em um segundo momento, durante o decorrer dos testes planejados no projeto, novamente procedeu-se a análise da água e os mesmos valores, do Quadro 8, foram encontrados.

Observa-se no Quadro 8 que o valor do pH da água encontrou-se próximo da neutralidade, tal como é indicado para refrigerantes (Tocchini e Nisida, 1995). Para a alcalinidade de bicarbonatos, o valor encontrado (19,0 mg CaCO₃/L) é considerado adequado para a fabricação de refrigerantes. Se a alcalinidade fosse alta, esse tipo de água consumiria a acidez do refrigerante (Tocchini e Nisida, 1995 e Garcez Filho, 1995). Quanto ao ferro, o resultado encontrado (< 0,02 mg/L) foi adequado, sendo que o máximo permitido é de 0,1 mg/L de Fe⁺⁺. Se tivéssemos valores maiores poderíamos ter problemas com as precipitações dos corantes, oxidação de aromas e formação de anel na garrafa (Tocchini e Nisida, 1995).

6.1.4 Gás carbônico

A degustação do gás carbônico, realizada através de água carbonatada, indicou sabor característico.

6.2 Refrigerante

6.2.1. Refrigerantes conservados por pasteurização

No Quadro 9, pode-se observar as análises físico-químicas dos refrigerantes conservados por pasteurização em valores médios.

Quadro 9. Análises físico-químicas dos refrigerantes conservados por pasteurização (valores médios).

| Amostra | pH | “ratio” | Acidez % m/v | °Brix | AR % m/v | ART % m/v | Vitamina C mg/100mL | CO ₂ v/v |
|--------------------|--------------|---------------|-----------------|--------------|--------------|----------------|------------------------|------------------------|
| Refrigerante P1B10 | 3,25 | 85,8 | 0,12 | 10,3 | 2,67 | 9,87 | 358,22 | 2,2 |
| Refrigerante P2B10 | 3,30 | 78,5 | 0,13 | 10,2 | 2,10 | 9,40 | 299,49 | 2,0 |
| Refrigerante P3B10 | 3,15 | 85,8 | 0,12 | 10,3 | 4,44 | 10,7 | 265,81 | 2,3 |
| Médias | 3,23a | 83,4a | 0,12a | 10,3a | 3,07a | 9,99b | 307,84a | 2,2a |
| Refrigerante P1B11 | 3,27 | 78,6 | 0,14 | 11,0 | 2,93 | 10,48 | 297,05 | 2,0 |
| Refrigerante P2B11 | 3,27 | 100,0 | 0,11 | 11,0 | 5,11 | 11,70 | 238,55 | 2,0 |
| Refrigerante P3B11 | 3,27 | 91,7 | 0,12 | 11,0 | 4,49 | 11,24 | 294,37 | 2,0 |
| Médias | 3,27a | 90,1a | 0,12a | 11,0b | 4,18a | 11,14ab | 276,66a | 2,0a |
| Refrigerante P1B12 | 3,29 | 92,3 | 0,13 | 12,0 | 2,44 | 11,60 | 268,98 | 2,2 |
| Refrigerante P2B12 | 3,25 | 119,0 | 0,10 | 11,9 | 4,27 | 11,67 | 224,07 | 2,0 |
| Refrigerante P3B12 | 3,28 | 102,5 | 0,12 | 12,3 | 3,67 | 11,98 | 267,74 | 2,3 |
| Médias | 3,27a | 104,6a | 0,12a | 12,1c | 3,46a | 11,75a | 253,60a | 2,2a |

Procurou-se informações sobre refrigerante de acerola na legislação atual de bebidas carbonatadas, com a finalidade de comparar os PQIs da legislação com os resultados obtidos nesta pesquisa, contudo, o refrigerante de acerola não está definido legalmente.

Observou-se que os tratamentos com variação de °Brix (10, 11 e 12), não alteraram os valores de pH dos refrigerantes. Esses resultados já eram esperados pelo fato do °Brix variar em função da quantidade de açúcar cristal adicionado na formulação. Os valores de pH foram próximos aos dos refrigerantes comerciais de laranja (3,3) e superiores aos de guaraná (2,8), conforme resultados apresentados no Apêndice / item 9.9. Segundo Baird e Kooiman (1980) o refrigerante de laranja tem 10°Brix, já Tocchini e Nisida (1985), comentam que esse refrigerante de laranja tenha de 13 a 14 °Brix. Refrigerante comercial de laranja, analisado no Laboratório de Bebidas, apresentou 12°Brix (Apêndice / item 9.9).

Não houve diferença no teor de AR em função do °Brix dos refrigerantes. As variações encontradas dentro de cada repetição das análises de AR são

devidas ao tempo decorrido entre a fabricação do refrigerante e a análise realizada. Valores maiores de AR indicam que a análise foi realizada tardiamente, ocorrendo maior hidrólise da sacarose, apesar de não ter sido significativa as diferenças entre os tratamentos. Em análise realizada com refrigerantes comerciais, sabores guaraná e laranja, encontrou-se valores de AR bem próximos, 4,78% m/v no de guaraná e de 3,08 no de laranja (Apêndice / item 9.9).

Os valores de ART acompanharam os valores de °Brix, ou seja, quase todos os sólidos solúveis presentes no xarope simples eram açúcares.

Os tratamentos não influenciaram no teor de vitamina C dos refrigerantes. Observou-se elevada variabilidade de resultados nessas análises. É provável que essa variabilidade de resultados tenha ocorrido em função do tempo de guarda dos refrigerantes antes das análises.

Os tratamentos não afetaram o grau de carbonatação do refrigerante. Há duas hipóteses que podem explicar esses resultados. Primeira: a variação de um ou dois °Brix na composição dos refrigerantes não foi suficiente para alterar a solubilidade do gás carbônico no meio líquido. Segunda, o método de análise de CO₂ utilizado não apresentou sensibilidade suficiente para detectar pequenas alterações nas concentrações de gás carbônico nos diferentes tratamentos.

Foi constatado que o valor do “ratio” acompanhou o valor do °Brix dos tratamentos, uma vez que as médias da acidez não variaram dentro dos tratamentos. Refrigerantes comerciais apresentaram valores de “ratio” próximos aos produzidos a partir de acerola (90,9 para o de guaraná e 70,6 para o de laranja), conforme apresentado no Apêndice / item 9.9.

6.2.2 Refrigerantes conservados por benzoato de sódio

No Quadro 10 são apresentados os resultados das análises físico-químicas dos refrigerantes conservados por benzoato de sódio - químico (valores médios).

Quadro10. Análises físico-químicas dos refrigerantes conservados por benzoato de sódio - químico (valores médios).

| Amostra | pH | “ratio” | Acidez % m/v | °Brix | AR % m/v | ART % m/v | Vitamina C mg/100mL | CO ₂ v/v |
|--------------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|---------------|---------------|------------------------|------------------------|
| Refrigerante Q1B10 | 3,39 | 68,7 | 0,15 | 10,3 | 5,32 | 10,00 | 295,45 | 2,2 |
| Refrigerante Q2B10 | 3,30 | 72,9 | 0,14 | 10,2 | 5,24 | 10,05 | 266,71 | 2,0 |
| Refrigerante Q3B10 | 3,51 | 85,8 | 0,12 | 10,3 | 5,12 | 10,19 | 251,81 | 2,1 |
| Médias | 3,40a | 77,8c | 0,14a | 10,3c | 5,23b | 10,08b | 271,32a | 2,1a |
| Refrigerante Q1B11 | 3,39 | 80,7 | 0,14 | 11,3 | 5,32 | 11,37 | 279,74 | 2,2 |
| Refrigerante Q2B11 | 3,27 | 93,3 | 0,12 | 11,2 | 5,56 | 11,37 | 236,81 | 2,2 |
| Refrigerante Q3B11 | 3,47 | 74,7 | 0,15 | 11,2 | 5,86 | 11,20 | 266,89 | 2,1 |
| Médias | 3,38a | 82,9b | 0,14a | 11,2b | 5,58ab | 11,31a | 261,15a | 2,2a |
| Refrigerante Q1B12 | 3,51 | 87,1 | 0,14 | 12,2 | 6,16 | 11,42 | 291,86 | 2,1 |
| Refrigerante Q2B12 | 3,25 | 100,8 | 0,12 | 12,1 | 5,71 | 11,47 | 291,25 | 2,0 |
| Refrigerante Q3B12 | 3,38 | 82,0 | 0,15 | 12,3 | 6,11 | 11,78 | 294,44 | 2,1 |
| Médias | 3,38a | 89,9a | 0,14a | 12,2a | 5,99a | 11,56a | 292,52a | 2,1a |

A discussão das análises realizadas sobre os resultados apresentados no Quadro 9 aplicam-se para os resultados observados no Quadro 10.

No Quadro 11 são apresentados os valores médios das análises físico-químicas dos refrigerantes tratados por pasteurização e por conservante químico.

Quadro 11 Valores médios das repetições obtidas nas comparação dos refrigerantes conservados por pasteurização e pelo benzoato de sódio.

| Amostra | pH | “ratio” | Acidez % m/v | °Brix | AR % m/v | ART % m/v | Vitamina C mg/100mL | CO ₂ v/v |
|-------------------|-------|---------|-----------------|-------|-------------|--------------|------------------------|------------------------|
| Refrigerante PB10 | 3,23a | 83,4a | 0,12a | 10,3c | 3,07c | 9,99c | 307,84a | 2,2a |
| Refrigerante PB11 | 3,27a | 90,1a | 0,12a | 11,0b | 4,18abc | 11,14ab | 276,66a | 2,0a |
| Refrigerante PB12 | 3,27a | 104,6a | 0,12a | 12,1a | 3,46bc | 11,75a | 253,60a | 2,2a |
| Refrigerante QB10 | 3,40a | 77,8a | 0,14a | 10,3c | 5,23abc | 10,08bc | 271,32a | 2,1a |
| Refrigerante QB11 | 3,38a | 82,9a | 0,14a | 11,2b | 5,58ab | 11,31a | 261,15a | 2,2a |
| Refrigerante QB12 | 3,38a | 89,9a | 0,14a | 12,2a | 5,99a | 11,56a | 292,52a | 2,1a |

O Quadro 11 mostra que os tratamentos de preservação dos refrigerantes não alteraram a maioria das características físico-químicas dos refrigerantes. Em função dos tratamentos realizados, observou-se diferença estatística nos valores de °Brix, AR e ART. As diferenças de valores de °Brix e ART são consequência das diferentes quantidades de açúcar usadas nas formulações dos refrigerantes. Os valores de AR mostram que houve maior hidrólise da sacarose no tratamento químico; isto pode ser atribuído ao fato de que a acidez nesses refrigerantes era maior em relação àqueles que fizeram uso da pasteurização, apesar de não ter apresentado diferença estatística.

6.2.3 Análises microbiológicas dos refrigerantes

Os resultados das análises de bolores e leveduras nos refrigerantes conservados quimicamente e por pasteurização, são apresentados no Quadro 12.

Quadro 12. Análise de bolores e leveduras dos refrigerantes conservados quimicamente e através de pasteurização (valores médios).

| Refrigerantes | Pasteurizados | | | Químicos | | |
|------------------------------|---------------|------|------|----------|------|------|
| | PB10 | PB11 | PB12 | QB10 | QB11 | QB12 |
| Bolores e leveduras (UFC/mL) | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 8 |

Obteve-se ausência de bactérias coliformes totais em ambos os tratamentos. O benzoato de sódio, usado como conservante, somente inibe o crescimento de bactérias, fungos e leveduras, sem destruí-los (Tfouni e Toledo, 2001). Observa-se que a ausência de bactérias coliformes totais nos refrigerantes conservados quimicamente mostra que as matérias-primas usadas na formulação das bebidas não estavam contaminadas com esse tipo de microrganismos, e que o processo de despulpamento da fruta, conservação da polpa e

fabricação dos refrigerantes foram realizados de forma a não propiciar contaminações no produto acabado.

Observou-se, através dos resultados apresentados no Quadro 12, que o tratamento térmico usado na pasteurização dos refrigerantes destruiu toda a população de fungos e leveduras. Os refrigerantes tratados quimicamente apresentaram crescimento de bolores e levedura, porém dentro da faixa aceita (20 UFC/mL) segundo Silva (1997). Isto pode ter ocorrido devido ao fato das frutas utilizadas na fabricação dos refrigerantes trazerem consigo microorganismos contaminantes em sua casca e fermentos, principalmente na forma de leveduras (Hoffmann et al., 1997 e Baird e Kooiman, 1980).

6.2.4 Análise cromatográfica dos compostos de aroma

Observa-se através das Figuras 10, 11, 12 e 13 os cromatogramas dos perfis dos compostos voláteis dos refrigerantes de acerola testados.

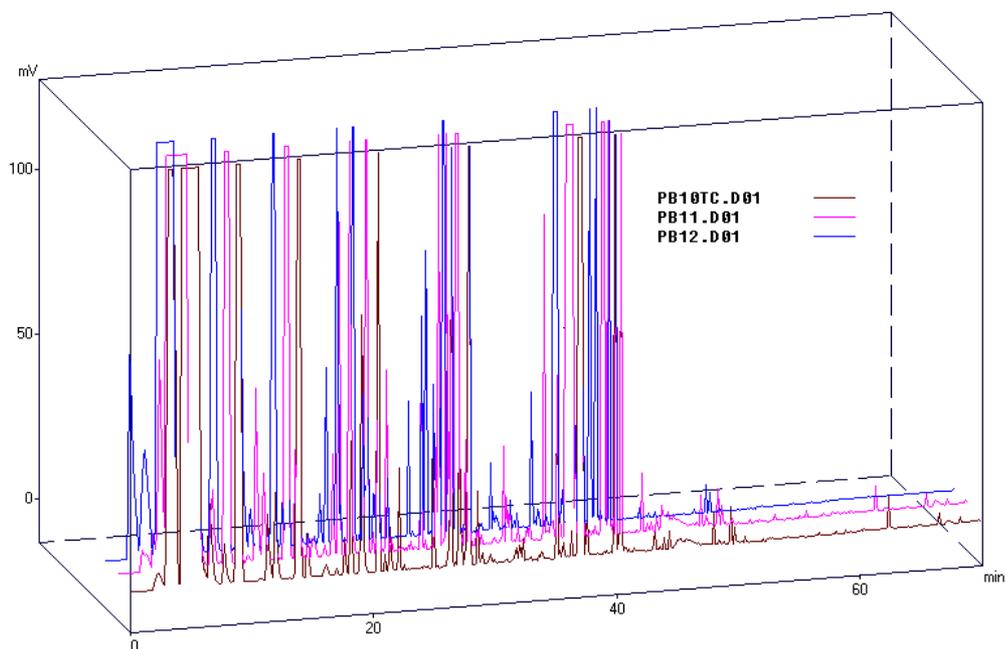


Figura 10. Cromatogramas sobrepostos dos refrigerantes pasteurizados com diferentes °Brix (10, 11 e 12).

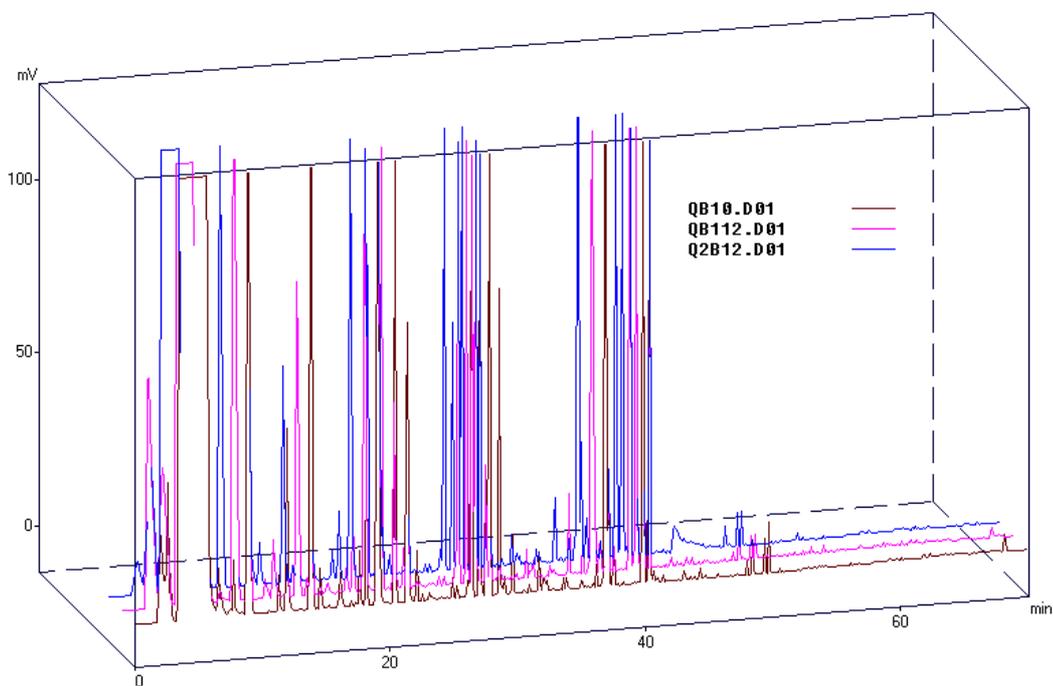


Figura 11. Cromatogramas sobrepostos dos refrigerantes conservados quimicamente com diferentes °Brix (10, 11 e 12).

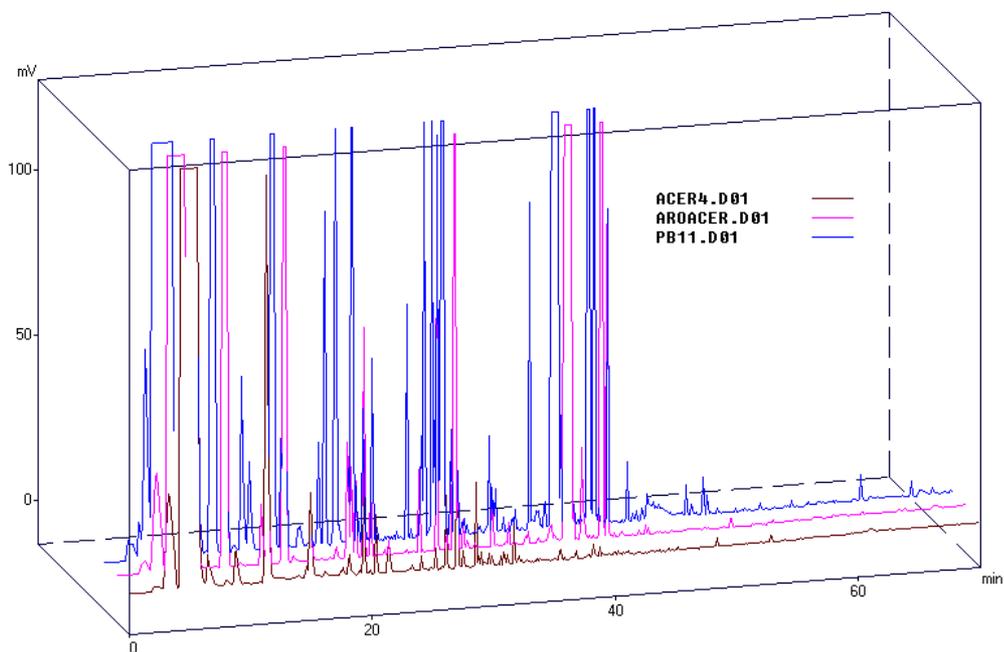


Figura 12. Cromatogramas sobrepostos da acerola, aroma artificial e refrigerante pasteurizado (11°Brix).

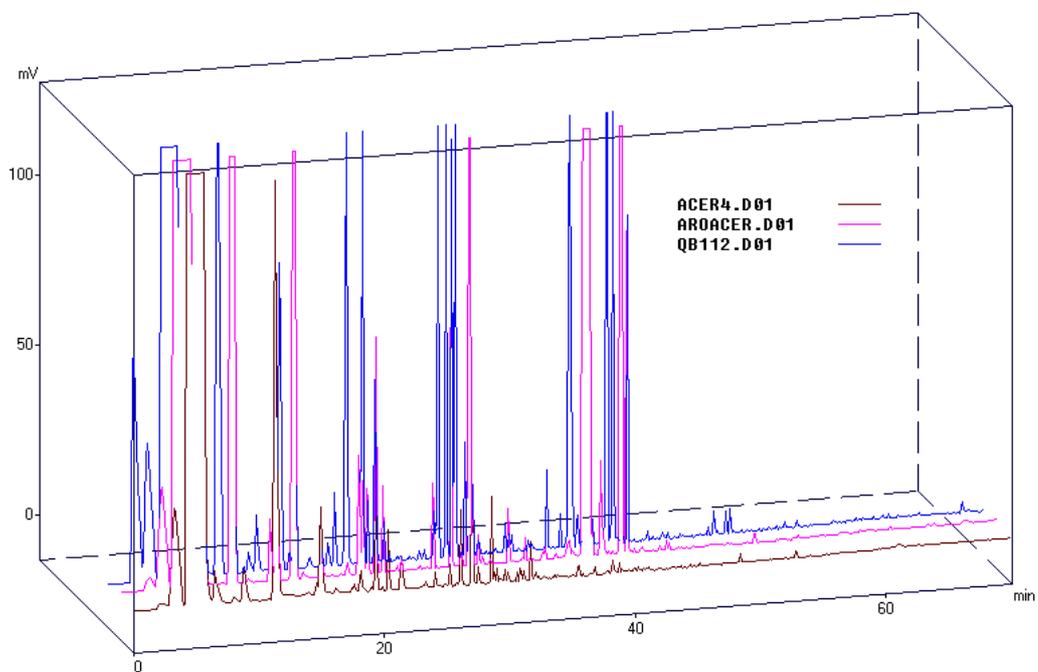


Figura 13. Cromatogramas sobrepostos da acerola, aroma artificial e refrigerante conservado quimicamente (11°Brix).

As diferentes concentrações de açúcar testadas (Figuras 10 e 11) bem como os diferentes tratamentos de conservação (Figuras 12 e 13), não interferiram nos perfis dos compostos voláteis dos refrigerantes. Porém observa-se uma diminuição dos compostos de aroma dos refrigerantes quando comparados (para os mesmos picos) com a polpa da fruta e com o aromatizante artificial usado na produção das bebidas.

Observa-se que o cromatograma do refrigerante conservado por pasteurização (Figura 12) apresentou maior número de picos que o do refrigerante conservado por benzoato de sódio (Figura 13). Isso pode indicar a presença de um maior número de compostos voláteis nesse refrigerante.

O refrigerante pasteurizado apresentou novos picos em relação ao suco de acerola e ao aromatizante. Isto pode ser explicado, segundo Boulanger e Crouzet (2001), em função de alguns compostos voláteis da acerola terem ligações glicosídicas, que podem ser quebradas durante o processamento de alimentos ou por ação enzimática levando a formação de novos compostos voláteis. Mesmo com essas possíveis mudanças no perfil dos compostos voláteis dos refrigerantes pasteurizados, não houve diferença de aceitabilidade entre estes e os refrigerantes conservados quimicamente.

6.2.5 Análise sensorial dos refrigerantes

Os resultados da análise sensorial dos refrigerantes pasteurizados (10, 11 e 12°Brix), realizada pelo teste de escala hedônica, são mostrados no Quadro 13.

Quadro 13. Análise sensorial dos refrigerantes pasteurizados.

| °Brix | Provadores | | | | | | | | Médias |
|-------|------------|---|---|---|---|---|---|---|-------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | |
| 10 | 7 | 5 | 4 | 7 | 6 | 8 | 3 | 3 | 5,4a |
| 11 | 8 | 7 | 4 | 4 | 7 | 7 | 6 | 6 | 6,1a |
| 12 | 7 | 4 | 6 | 5 | 8 | 7 | 7 | 7 | 6,4a |

Pode-se observar que houve uma tendência entre as notas atribuídas pelos provadores aos refrigerantes e o seu teor de extrato (°Brix), embora não tenha havido significância estatística entre as médias dos tratamentos.

Os resultados da análise sensorial dos refrigerantes conservados quimicamente (10, 11 e 12°Brix), realizada pelo teste de escala hedônica, são mostrados no Quadro 14.

Quadro 14. Análise sensorial dos refrigerantes conservados quimicamente.

| °Brix | Provadores | | | | | | | | | Médias |
|-------|------------|---|---|-----|---|---|---|---|---|-------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | |
| 10 | 6 | 4 | 5 | 7 | 8 | 6 | 8 | 7 | 8 | 6,6a |
| 11 | 5 | 7 | 7 | 8,5 | 8 | 7 | 8 | 7 | 7 | 7,2a |
| 12 | 4 | 7 | 6 | 8 | 7 | 8 | 8 | 8 | 6 | 6,9a |

Para os refrigerantes conservados com benzoato de sódio, os provadores do painel sensorial não expressaram preferência em função do teor de sólidos solúveis (°Brix). Há duas hipóteses para explicar esse resultado: a) o painel não detectou diferença no grau de doçura dos refrigerantes; b) a diferença de doçura dos refrigerantes não influenciou na preferência do painel.

O Quadro 15 ilustra os resultados da análise sensorial, realizada pelo teste triangular, dos refrigerantes (10, 11 e 12°Brix) conservados quimicamente e através de pasteurização.

Quadro 15. Análise sensorial dos refrigerantes conservados quimicamente e por pasteurização.

| °Brix | Provedores | | | | | | | | | | Significância Estatística |
|-------|------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | |
| 10 | A | A | A | A | A | A | A | E | A | A | 0,1% |
| 11 | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | 0,1% |
| 12 | A | A | A | A | E | A | E | A | A | A | 1% |

A: resposta correta.

E: resposta errada

Constatou-se que os tratamentos de conservação dos refrigerantes afetaram as suas características sensoriais, principalmente o sabor e o odor da bebida. As diferenças sensoriais foram detectadas facilmente pelos provedores, resultando em elevada significância estatística. Entretanto, o painel não conseguiu descrever com clareza essas diferenças sensoriais. Vale ressaltar que a cor dos refrigerantes não foi afetada pelos tratamentos; além disso, os testes sensoriais foram feitos sob luz vermelha, o que impediu qualquer influência da cor nas repostas dos provedores.

Observa-se através do Quadro 16 as notas de preferências dadas pelo painel de análise sensorial aos refrigerantes testados a 10, 11 e 12°Brix.

Quadro 16. Análise sensorial de preferência dos refrigerantes conservados quimicamente e por pasteurização.

| Tratamentos | | Provedores | | | | | | | | | Médias |
|-------------|--------------|------------|---|---|---|---|---|---|---|---|-------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | |
| 10 °Brix | Pasteurizado | 4 | 6 | 4 | 5 | 8 | 4 | 7 | 8 | 6 | 5,8a |
| | Químico | 6 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 8 | 6 | 6,9a |
| 11 °Brix | Pasteurizado | 8 | 5 | 7 | 8 | 5 | 8 | 7 | 5 | 3 | 6,2a |
| | Químico | 9 | 7 | 6 | 7 | 7 | 5 | 6 | 6 | 6 | 6,6a |
| 12 °Brix | Pasteurizado | 8 | 5 | 5 | 9 | 5 | 6 | 7 | 3 | 8 | 6,2a |
| | Químico | 7 | 6 | 7 | 8 | 5 | 8 | 7 | 6 | 7 | 6,8a |

Os dados do Quadro 16 mostram que os provedores atribuíram maiores notas para os refrigerantes conservados quimicamente, mas as diferenças entre as médias não apresentaram significado estatístico.

Notou-se que os provadores conseguiram diferenciar claramente os dois tratamentos (Quadro 15), porém quando lhes foi solicitado para atribuírem notas de preferência aos refrigerantes (Quadros 13, 14 e 16) eles praticamente atribuíram notas semelhantes (entre 6 e 7). Sete é uma nota de boa aceitabilidade, pois a escala utilizada foi de 1 (desgostei muitíssimo) a 9 (gostei muitíssimo), sendo que 7 representa “gostei regularmente” (Apêndice / item 9.11).

6.3 Vida de prateleira dos refrigerantes testados

6.3.1 Análises físico-químicas dos refrigerantes com 30 dias

No Quadro 17 pode-se observar os resultados das análises físico-químicas dos refrigerantes testados e armazenados por um período de 30 dias.

Quadro 17. Análise físico-química de refrigerantes com 30 dias de vida de prateleira.

| Amostra | pH | “ratio” | Acidez % m/v | °Brix | AR % m/v | ART % m/v | Vitamina C mg/100mL | CO ₂ v/v |
|-------------------|-------|---------|-----------------|-------|-------------|--------------|------------------------|------------------------|
| Refrigerante PB10 | 3,31a | 93,6a | 0,11a | 10,3c | 7,36a | 8,76a | 233,49a | 2,1a |
| Refrigerante PB11 | 3,37a | 101,8a | 0,11a | 11,2b | 6,84a | 9,48a | 215,75a | 2,0a |
| Refrigerante PB12 | 3,39a | 109,1a | 0,11a | 12,0a | 7,68a | 9,91a | 228,81a | 2,1a |
| Refrigerante QB10 | 3,61a | 41,2a | 0,25a | 10,3c | 9,76a | 9,55a | 256,63a | 2,2a |
| Refrigerante QB11 | 3,29a | 33,9a | 0,33a | 11,2b | 10,16a | 10,01a | 247,69a | 2,2a |
| Refrigerante QB12 | 3,60a | 58,1a | 0,21a | 12,2a | 11,28a | 11,93a | 281,77a | 2,2a |

Os resultados do Quadro 17 são discutidos nos parágrafos abaixo, através de sua comparação com os resultados do Quadro 11, que mostra as características físico-químicas dos refrigerantes recém processados.

Para os dois tratamentos, o AR aumentou devido à hidrólise da sacarose, conforme discutido no item 6.2.1.

A concentração de vitamina C diminuiu, contudo nos refrigerantes pasteurizados, observou-se uma queda mais acentuada. A porcentagem de perda de vitamina C no tratamento térmico variou de 31,85% para os de 10°Brix, de 28,23% para os de 11°Brix e de 10,83% para os de 12°Brix. Nos refrigerantes tratados quimicamente as perdas de vitamina C foram consideravelmente menores, 5,72% para os refrigerantes de 10 °Brix, de 5,43% para os de 11°Brix e de 3,82% para os de 12°Brix. Esse comportamento pode ser explicado em função do tempo decorrido entre a fabricação e a análise que pode ter interferido no teor dessa vitamina, pois os refrigerantes primeiramente fabricados (pasteurizados) podem ter perdido maiores quantidades de vitamina C.

Segundo Carvalho e Guerra (1995) o suco de acerola tratado a 70°C / 15 minutos, apresentou perda de vitamina C por volta de 26,9% durante o armazenamento de 30 dias a temperatura ambiente.

Os valores encontrados de “ratio” para refrigerantes preservados quimicamente, variaram em função da acidez. Nos refrigerantes tratados quimicamente ocorreram alterações físicas na forma de um precipitado (polpa e corantes) no fundo da garrafa, sendo que o líquido sobrenadante apresentou coloração amarela clara semelhante ao refrigerante sem corante. Uma hipótese para explicar este fato é a atividade da enzima pectina metil esterase (PME), pois ela pode ter hidrolisado parcialmente a pectina presente no suco de acerola, causando a coalescência e precipitação das partículas coloidais no refrigerante (Basak e Ramaswamy, 1996). Observou-se ainda que os pigmentos naturais do suco de fruta estão associados às partículas de polpa da fruta. Estes sólidos insolúveis, por sua vez, também arrastaram os corantes artificiais para o fundo da garrafa.

Nos refrigerantes tratados por pasteurização não ocorreram alterações de cor, porém seu sabor alterou-se, apresentando sabor estranho. Segundo Teixeira Neto e Jardim (1996), alimentos pasteurizados tem vida de prateleira geralmente curta. De acordo com Fellows (1994), esse período varia de alguns dias até algumas semanas, quando comparados com produtos esterilizados, cuja vida de prateleira pode ser de vários meses.

De acordo com informações verbais colhidas junto aos provadores do painel sensorial, os refrigerantes conservados quimicamente não apresentaram sabores ou odores estranhos, enquanto que os refrigerantes pasteurizados apresentaram sabor e odor de cozido.

Como os refrigerantes conservados por pasteurização e por benzoato de sódio apresentaram instabilidade físico-química ou sensorial em 30 dias de armazenamento, suspendeu-se a continuidade dos testes de vida de prateleira.

6.4 Avaliação econômica

Nos Quadros 18 e 19 são mostrados os custos das despesas específicas de produção dos refrigerantes produzidos com conservante químico e com tratamento térmico. Esse estudo refere-se à um ciclo de produção com duração de 4 horas e produção de 15 litros de refrigerante.

Quadro 18. Custos de produção de refrigerantes conservados com benzoato de sódio.

| Matéria-prima (MP) | 10°Brix (R\$) | % (Custo total por batelada) | 11°Brix (R\$) | % (Custo total por batelada) | 12°Brix (R\$) | % (Custo total por batelada) |
|--|----------------------|-------------------------------------|----------------------|-------------------------------------|----------------------|-------------------------------------|
| Acerola | 2,81 | 18,94 | 2,82 | 18,85 | 2,83 | 18,77 |
| Açúcar | 0,99 | 6,67 | 1,10 | 7,35 | 1,21 | 8,02 |
| Água | 0,03 | 0,20 | 0,03 | 0,20 | 0,03 | 0,20 |
| Gás Carbônico | 0,24 | 1,61 | 0,24 | 1,60 | 0,24 | 1,59 |
| Subtotal (MP) | 4,07 | 27,42 | 4,19 | 28,00 | 4,31 | 28,58 |
| Mão-de-obra (MO) | 7,31 | 49,26 | 7,31 | 48,86 | 7,31 | 48,48 |
| Tratamento químico (Q) | 0,51 | 3,44 | 0,51 | 3,41 | 0,51 | 3,38 |
| Equipamentos (E) | Energia (R\$) | Depreciação (R\$) | | Juros (R\$) | Total (R\$) | % (Custo total por batelada) |
| Cozedor | 0,44 | 0,12 | | 0,23 | 0,79 | 5,28 |
| Misturador | 0,17 | 0,14 | | 0,26 | 0,57 | 3,81 |
| Carbonatador | 0,17 | 0,26 | | 0,47 | 0,90 | 6,02 |
| Despoldadeira | 0,01 | 0,24 | | 0,44 | 0,69 | 4,61 |
| Subtotal (E) | 0,79 | 0,76 | | 1,40 | 2,95 | 19,72 |
| Custo total por batelada (US\$) (MP+MO+Q+E) | 10°Brix 14,84 | | 11°Brix 14,96 | | 12°Brix 15,08 | |
| Custo total por litro (R\$) | 0,99 | | 1,00 | | 1,00 | |

Quadro 19. Custos de produção de refrigerante conservado por pasteurização.

| Matéria-prima (MP) | 10°Brix (R\$) | % (Custo total por batelada) | 11°Brix (R\$) | % (Custo total por batelada) | 12°Brix (R\$) | % (Custo total por batelada) |
|--|----------------------|-------------------------------------|----------------------|-------------------------------------|----------------------|-------------------------------------|
| Acerola | 2,81 | 18,15 | 2,82 | 18,07 | 2,83 | 18,00 |
| Açúcar | 0,99 | 6,39 | 1,10 | 7,05 | 1,21 | 7,70 |
| Água | 0,03 | 0,20 | 0,03 | 0,20 | 0,03 | 0,20 |
| Gás Carbônico | 0,24 | 1,55 | 0,24 | 1,53 | 0,24 | 1,53 |
| Subtotal (MP) | 4,07 | 26,29 | 4,19 | 26,85 | 4,31 | 27,43 |
| Mão-de-obra (MO) | 7,31 | 47,22 | 7,31 | 46,86 | 7,31 | 46,50 |
| Tratamento térmico (T) | 1,09 | 7,04 | 1,09 | 6,99 | 1,09 | 6,93 |
| Equipamentos (E) | Energia (R\$) | Depreciação (R\$) | | Juros (R\$) | Total (R\$) | % (Custo total por batelada) |
| Cozedor | 0,44 | 0,12 | | 0,23 | 0,79 | 5,06 |
| Misturador | 0,17 | 0,14 | | 0,26 | 0,57 | 3,66 |
| Carbonatador | 0,17 | 0,26 | | 0,47 | 0,90 | 5,77 |
| Despoldadeira | 0,01 | 0,24 | | 0,44 | 0,69 | 4,43 |
| Fogão | 0,00 | 0,02 | | 0,04 | 0,06 | 0,38 |
| Subtotal (E) | 0,79 | 0,78 | | 1,44 | 3,01 | 19,29 |
| Custo total por batelada (US\$) (MP+MO+T+E) | 10°Brix 15,48 | | 11°Brix 15,60 | | 12°Brix 15,72 | |
| Custo total por litro (R\$) | 1,03 | | 1,04 | | 1,05 | |

Observa-se, através dos Quadros 18 e 19, que os tratamentos alteraram muito pouco os custos de produção dos refrigerantes conservados térmica (7,0%) e quimicamente (3,4%).

De um modo geral, observa-se que a matéria-prima foi responsável por 28% das despesas específicas dos custos dos refrigerantes. O açúcar (7,2%) e a acerola (18,5%) são os componentes que se destacam no custo da matéria-prima. A água é usada em grande quantidades, porém seus custos são baixos em relação aos demais.

A mão-de-obra é responsável por 47,8% das despesas específicas dos custos dos refrigerantes; isto porque a produção em escala piloto é muito pequena (15L/dia) em relação às indústrias que produzem na escala do m³/hora. Observando-se o estudo realizado por Venturini Filho (1993) em cervejaria industrial, nota-se que a mão-de-obra não passa de 1% do valor do custo total de produção de mosto cervejeiro, ao passo que o custo da matéria-prima é responsável em média por 97% do custo total de produção.

As despesas de equipamentos e de tratamentos de conservação (químico ou térmico), referem-se aos demais custos na produção de refrigerantes. Dentre os processos de conservação, o tratamento térmico (7,0%) apresentou custo mais elevado em relação ao tratamento químico (3,4%). A diferença de custo entre esses tratamentos é explicada pelo preço do kg de gás liqüefeito, pelo tempo de uso desse combustível e pelo equipamento (fogão de cozinha) usados no tratamento térmico em comparação ao preço do kg de benzoato de sódio, que não requer equipamento em sua utilização. Na escala industrial, a situação é semelhante à descrita para a escala piloto, sendo que lá se utiliza o processo químico de conservação em virtude de ser mais barato em relação à pasteurização e conservar melhor as características sensoriais da bebida.

7. CONCLUSÕES

Através da presente pesquisa podemos concluir que:

- os tratamentos de variação de °Brix (10, 11 e 12) não alteraram físico-química e sensorialmente os refrigerantes testados;
- os tratamentos de conservação (pasteurização e por benzoato de sódio) não alteraram físico-química e sensorialmente os refrigerantes testados;
- no teste de vida de prateleira houve alterações físicas nos refrigerantes tratados quimicamente, porém apresentaram-se estáveis quanto ao sabor e aroma. Nos refrigerantes pasteurizados ocorreram modificações de sabor e aroma, contudo mantiveram-se estáveis quanto a alterações físicas (cor);
- os tratamentos (conservação e teor de extrato) não afetaram os custos de produção dos refrigerantes.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINI-COSTA, T. S., ABREU, L. N., ROSSETTI, A. G. Efeito do congelamento e estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenóides e antocianinas. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 4, 2001, Campinas. *Livro de Resumos...* Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2000. p.58.

AGUIAR, L.P., ALVES, R.E., LIMA, D.P., FIGUEIRAS, H.A.C., ALMEIRDA, A.S. Carotenóides totais e vitamina C em acerolas oriundas de plantas selecionadas dentro de progênies de polinização aberta. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 17, 2000, Fortaleza. *Livro de Resumos...* Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2000. v.2, p.5.56.

ALMEIDA, P. G. Açúcar líquido é opção para refrigerantes. *Engarrafador Moderno*, n. 63, p.45 -6, 1999.

ALVES, R. E. *Acerola (Malpighia emarginata D.C.) fisiologia da maturação e armazenamento refrigerado sob atmosfera ambiente e modificado*. Lavras, 1993. 95p.

Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fisiologia Vegetal) - Escola Superior de Agricultura de Lavras.

ALVES, R. E. *Qualidade de acerola submetida à diferentes condições de congelamento, armazenamento e aplicação pós colheita de cálcio*. Lavras, 1999. 117p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos / Fisiologia Pós-Colheita) - Universidade Federal de Lavras.

ALVES, R.E., MENEZES, J.B. Botânica da aceroleira. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE ACEROLA NO BRASIL, 1, 1995, Vitória da Conquista. *Anais...* Vitória da Conquista: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 1995. p.7-14.

AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS. *Methods of analysis of American Society of Brewing Chemists*, Madison, 1958. 209p.

ANTUNES, A.J., CANHOS, V.P. *Aditivos em alimentos*. São Paulo: Governo do Estado de São Paulo, Secretaria da Indústria, Comércio, Ciências e Tecnologia, Coordenadoria da Indústria e Comércio, s.d. p.126 e 134.

ARAGÃO, A. O., SOUZA FILHO, M.M., HYLUI FILHO, J.J., HAPONIK, C.A.V., CARVALHO, J. M. Efeito da concentração cinética de degradação da vitamina C do suco de acerola clarificado e concentrado durante a armazenagem. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 4, 2001, Campinas. *Livro de Resumos...* Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2001, p.199.

ARAÚJO, P.S.R., MINAMI, K. *Acerola*. Campinas: Fundação Cargill, 1994. 81p.

ASSIS, S.A., LIMA, D. C., FARIA OLIVEIRA, O.M.M. Acerola's pectinmethylesterase: studies of heat inactivation. *Food Chemistry*, v.71, p.465-7, 2000.

ASSIS, S.A., LIMA, D. C., FARIA OLIVEIRA, O.M.M. Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at stages of fruit development. *Food Chemistry*, v.74, p.133-7, 2001.

BALLEW, C., KUESTER, S., GILLESPIE, C. Beverage choices affect adequacy of children's nutrient intakes. *Arch Pediatric Adolescence Medicine*, v.154, p.1148-52, 2000.

BAIRD, A.C., KOOIMAN, W.J. Soft drink, fruit juices, concentrates, and fruit preserves. In: INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. *Microbial Ecology of Foods*, Sydney, 1980. 2v., v.2. Foods products.

BEAL, C. Beverages: adapting to changing demands. *Food Manufacture*, v.73, n.9, p. 65-6, 1998.

BERTO, D. Refrigerantes: pura efervescência em ascensão desenfreada. *Engarrafador Moderno*, n. 91, p.38-42, 2001.

BLENFORD, D. Soft drink. II Soft drink formulation. *Food Ingredients and Analysis International*, v.19, n.2, p.25-8,1997.

BLISKA, F.M.M., LEITE, R.S.S.F. Aspectos econômicos e de mercado. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE ACEROLA NO BRASIL, 1, 1995, Vitória da Conquista. *Anais...* Vitória da Conquista: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 1995. p.107-23.

BOBBIO, F.O., BOBBIO, P.A. *Introdução á química de alimentos*. São Paulo: Varela, 1989. 223p.

BOULANGER, R., CROUZET. J. Identification of the aroma components of acerola (*Malpighia glaba L.*): free and bound flavour compounds. *Food Chemistry*, v. 74, p.209-16, 2001.

BRASIL. Decreto-lei n. 2314, 4 set.1997. Vigilância Sanitária. Bebidas – Normas sobre Padronização, Classificação, Registro, Inspeção, Produção e Fiscalização –Regulamentação. *Diário Oficial*, Brasília, 5 set. 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa n. 12, 10 set. 1999 Aprova os Padrões de Identidade e Qualidade para polpas e sucos de frutas. Regulamentação. *Diário Oficial*, Brasília, 13 set. 1999.

BYRNE, M. New food products: from around the world. *Food Engineering International*, v.18, n.2, p. 46-8, 50, 52-4, 1993.

CARBONATAÇÃO: a vida da bebida. *Boletim Técnico Liquid Carbonic Indústria*, s.n.t. “não pag.”

CARVALHO, I.T., GUERRA, N.B. Efeito de diferentes tratamentos térmicos sobre as características do suco de acerola. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE ACEROLA NO BRASIL, 1, 1995, Vitória da Conquista. *Anais...Vitória da Conquista: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia*, 1995. p.96-101.

EUROPEAN BREWERY CONVENTION. *Analytica - EBC*. 4 ed. Zurique: Brauerei - und Getränke - Rundschau, 1987. 271p.

FELLOWS, P. *Tecnología del procesado de los alimentos: principios y prácticas*. Zaragoza: Acribia, 1994. p. 549.

FIGUEIRÊDO, R.M.F. *Caracterização físico-química do suco e pó de acerola (Malpighia puniceifolia L.)*. Campinas, 1998. 184p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

FRANCO, M.R.B., RODRIGUES-AMAYA, D.B. *Trapping of soursop (Annona muricata) juice volatile on Poropak Q by suction*. *Journal Science Food Agriculture*, v.34, p.293-9, 1983.

GARCEZ FILHO, P.P. Água. In: CURSO SOBRE TECNOLOGIA DE REFRIGERANTES, 1995, Curitiba. *Curso sobre Tecnologia de Refrigerantes*. Curitiba: Brahma, 1995. p.1-21.

GAYET, J. P. Acerola. *Soluções Fruta a Fruta*, v.1, n 2, p.5-10, 1995.

GENTILE, T. The Australasian soft drink industry. *Food Australia*, v.8, n.52, p.346, 2000.

GIESE, J. Developments in beverage additives. *Food Technology*, set. p.64-72, 1995.

GOMES, F.P. *Curso de estatística experimental*. 6.ed. Piracicaba: Ed. Universidade de São Paulo, 1976. 430p.

GOMEZ, P., REYNES, M., DORNIER, M., HEBERT, J. P. La cerise des Antilles: une exceptionnelle source de vitamine C naturelle. *Fruits*, v.54, p.247-60, 1999.

GONGATTI NETTO, A., ARDETO, E.F.G., BEINOTH, E.W., BORDIN, M.R., FREIRE, F.C.O., MENEZES, J.B., SOBRINHO, R.B., ALVES, R.E. Acerola para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita. Brasília: Programa de Apoio à Produção e Exportação de Frutas, Hortaliças, Flores e Plantas Ornamentais, Secretaria de Desenvolvimento Rural, , Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, EMBRAPA, 1996. 30p. (*Série Publicações Técnicas FRUPEX*, 21).

HANSSON, A., ANDERSSON, J., LEVEFVÉN, A. The effect of sugars and pectin on flavour release from a soft drink-related model system. *Food Chemistry*, v.72, p.363-8, 2001.

HARNACK, L., STANG, J., STORY, M. Soft drink consumption among US children and adolescents. *Journal American Dietetic Association*, v.99, p. 436-41, 1999.

HAVLÍKOVÁ, L., MÍKOVÁ, K., KYZLINK, V. Red beet pigments as soft drink colorants. *Die Nahrung*, v.29, p.723-30, 1985.

HOFFMANN, R., ENGLER, J.J.C., SERRANO, O. *Administração da empresa agrícola*. 3.ed. São Paulo: Pioneira, 1981. 325p.

HOFFMANN, F. L., GARCIA-CRUZ, C.H., PAGNOCCA, F.C., VINTURIM, T.M., MANSOR, A.P. Microrganismos contaminantes de polpa de frutas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.17, n.1, p.32-7, 1997.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 3.ed. São Paulo: Coordenadoria dos Serviços Técnicos Especializados, Secretaria do Estado da Saúde, 1985. 533p.

- JAMES, A. Soft drink. I. The soft drink market. *Food Ingredients Analysis International*, v.19, n.2, p.23-5, 1997.
- JANSER, E. Enzyme applications for tropical fruits and citrus. *Fruit Processing*, v.7, n.10, p. 388-93, 1997.
- JOSSE, R. How to use natural colors. *Food Engineering International*, p.44,46 e 49, 1987.
- KAWATI, R. Pesquisa e extensão sobre a cultura da acerola no estado de São Paulo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE ACEROLA NO BRASIL, 1, 1995, Vitória da Conquista. *Anais... Vitória da Conquista: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia*, 1995. p.149-54.
- KLINGENBERG, A., MÜTTMANN, M. GMO-Free natural coloring and coloring foodstuffs. *Food Market Technology*, v.13, n.5, p.8, 1999.
- KORGO, A. Development of consumption and raw materials: till today and in the future. *Fruit Processing*, Schoenborn, v.6,n.12, p.478-81, 1996.
- LUCAS, A.P. Acerola: suco da saúde conquista o mundo inteiro. *Manchete Rural*, v.5, n.69, p.10-3, 1993.
- MACIEL , M.I.S., MELO, E.A., LIMA, V.L.A.G., SILVA, M.R.F., SILVA, I.P. Processing and storage of acerola (*Malpighia sp*): fruit and its products. *Journal Food Science Technology*, v.36, p.142-6, 1999.
- MALCHER, E., SANTOS, E. Conservação da polpa de acerola (*Malpighia glabra L.*) através polpa de tratamento térmico. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE

ALIMENTOS, 4, 2001, Campinas. *Livro de Resumos...* Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2001. p.179.

MARINO, L.N. *Acerola, a cereja tropical*. São Paulo: Nobel, 1986. 94p.

MARTINO, D.B. Crescimento de marcas regionais acirra disputa no mercado de refrigerantes. *Engarrafador Moderno*, n.62, p.18-27, 1999.

MARTINO, D.B. Fabricantes de refrigerantes regionais criam associação independente. *Engarrafador Moderno*, n.80, p.10-2, 2000.

MASSA, S., FACCIOLONGO, M., RABASCO, E., CARUSO, M. Survival of indicator in soft drink. *Food Microbiology*, v.15, n.3, p. 253-7, 1998.

MORAES, M.A.C. *Método para avaliação sensorial dos alimentos*. 8.ed. Campinas: Ed. Universidade Estadual de Campinas, 1993. 93p.

MOREIRA, M.S.T.E., PEROSA, J.M.Y. Análise de custos de produção de cogumelo champignon de Paris (*Agaricus bisporus*) na região de Mogi das Cruzes –São Paulo. In: SIMPÓSIO EM ENERGIA NA AGRICULTURA, 1, 1999, Botucatu. *Anais...* Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 1999. p.239.

MORI, E. E. M. Determinação da vida de prateleira através da análise sensorial e correlações. In: TEIXEIRA NETO, R. O., VITALI, A. A. (Coord.) *Reações de transformação e vida de prateleira de alimentos processados*. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimento / FRUTHOTEC, 1996. Cap. 5, p.5.1-5.11.

NIELSEN, S. Natural colors for confectionery. *Food Market Technology*, v.13, n.3, p. 6-11, 1999.

OLIVA, P.B., MENEZES, H.C., FERREIRA, V.L.P. Estudo da estabilidade do néctar de acerola. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.16, p.228-32, 1996.

OLIVEIRA, M.E.B., BASTOS, M.S.R., FEITOSA, T. BRANCO, M.A.A.C., SILVA, M.G.G. Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de polpas congeladas de acerola, cajá e caju. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.19,n.3, 1999.

PACHECO, D. S. Wild lança novos conceitos de bebidas. *Engarrafador Moderno*, v.9, n.58, p.91-2, 1998.

PRESTES, C., CAVALCANTI, K. Copo sem fundo. Os refrigerantes dos pequenos produtores ganham força no mercado brasileiro, que não pára de crescer. *Veja*, v.32, n.21, p.154, 1999.

RAMASWAMY, H.S., ABBATEMARCO, C. Thermal processing of fruit. In: SOMOGYI, L.P., RAMASWAMY, H.S., HUI, Y. H. (Ed). *Processing fruits science and technology: biology, principles, and applications*. Lancaster: Tecnom Publishing, 1996. v.1, p.25-66.

REFRIGERANTE surgiu no século 17 e não tinha gás. *Jornal Folha de São Paulo*. São Paulo, s.d. Disponível em: < <http://www.uol.com.br/folha/equilibrio/noticias/ult263u772.shtml> >

Acesso em: 17 jan. 2002.

RIGHETTO, A.M., NETTO, F.M. Caracterização físico química de suco de acerola verde concentrado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 17, 2000, Fortaleza. *Livro de Resumos...* Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2000. v.2, p.5.169.

SANTANA, J.R. CURSO SOBRE TECNOLOGIA DE REFRIGERANTES, 1995, Curitiba. *Curso sobre Tecnologia de Refrigerantes*. Curitiba: Brahma, 1995. pag. irreg..

SANTOS, H.S. *Efeito térmico na retenção de voláteis da polpa de acerola microencapsulada*. Campinas, 1997. 138p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

SCHIPPA, C., GEORGE, G., FELLOUS, R. Constituants volatils de l'acerola. *Parfums, Cosmétiques, Arômes*, v. 113, p.81-4, 1993.

SILVA, F. C. *Reologia do suco de acerola: efeitos da concentração e da temperatura*. 2000. p. 1-12 Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

SILVA, M.F.V. *Efeito de diferentes tratamentos e embalagens na polpa de acerola e caracterização dos teores de ácido ascórbico e das antocianinas durante o tempo de armazenamento*. 1999. p.66-7 Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

- SILVA, N., TANIWAKI, M.H., JUNQUEIRA, V.C.A., SILVEIRA, N.F.A. *Manual de métodos de análises microbiológica de sucos e refrigerantes*. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimento, 1997. 117p.
- SINKI, G. Soft drink flavour preferences. *Perfumer&Flavourist*, v.19, p.19-28. 1994.
- SPEIRS, J., BRADY, C.J. Modification of gene expression in ripening fruit. *Australian Journal of Plant Physiology*, v. 18, p. 519-32. 1991.
- STILLMAN, J. Color influences flavor identification in fruit-flavored beverages. *Journal Food Science*, v.58, p.810-2, 1993.
- TEIXERA NETO, R.O., JARDIM, D.C.P. Reações de transformação em alimentos. In: TEIXEIRA NETO, R. O., VITALI, A. A. (Coord.). *Reações de transformação e vida de prateleira de alimentos processados*. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimento / FRUTHOTEC, 1996. Cap.1, p.1-6.
- TFOUNI, S.A.V., TOLEDO, M.C.F. Conservadores ácido benzóico e ácido sórbico – uma revisão. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.35, n ½, p. 41-53, 2001.
- TOCCHINI, R. P., NISIDA, A. L. A. C. Linhas de engarrafamento-tendências. In: SEMINÁRIO SOBRE ASPECTOS RELEVANTE NA INDUSTRIALIZAÇÃO DE REFRIGERANTES, 2000, Campinas. *Anais...* Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2000a. s.p.

TOCCHINI, R. P., NISIDA, A. L. A. C. Tecnologia de refrigerantes. In: SEMINÁRIO SOBRE ASPECTOS RELEVANTE NA INDUSTRIALIZAÇÃO DE REFRIGERANTES, 2000, Campinas. *Anais...* Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2000b. p.1-13.

TOCCHINI, R. P., NISIDA, A.L.A.C. *Industrialização de refrigerante*. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1995. p.32-6.

TOCCHINI, R. P., NISIDA, A. L. A. C., MARTIN, Z. J. *Industrialização de polpas, sucos e néctar de frutas*. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1995. 85p.

UCKO, D.A. *Química para as ciências da saúde: uma introdução à química geral, orgânica e biológica*. São Paulo: Manole, 1992. 646p.

VALENTINI, C. Refresco saudável. Preocupados com a saúde, o brasileiro está consumindo cada vez mais sucos naturais. *Veja*, v. 32, n. 4, p.71, 1999.

VARNAM, A. H., SUTHERLAND, J. P. *Bebidas: tecnologia, química y microbiología*. Zaragoza: Acribia, 1997. 487p.

VENDRAMINI, A.L., TRUGO, L.C., Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.) at three stages of maturity. *Food Chemistry*, n.71, p.195-8, 2000.

VENTURINI FILHO, W.G. *Fécula de mandioca como adjunto de malte na fabricação de cervaja*. Botucatu, 1993. 233p. Tese (Doutorado em Agronomia – Área de Energia na Agricultura) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas.

9. APÊNDICE

9.1 Teste de rendimento da despoldadeira

Para se realizar as análises da acerola, foram pesadas em balança digital comercial, com três casas decimais (sensibilidade 5 g), a massa total de fruta fresca; após o processo de despoldamento, foram pesadas a polpa da fruta e o resíduo (caroço). Foi calculado matematicamente o rendimento.

Observa-se no Quadro 20 o rendimento na despoldadeira, da acerola “in natura” e pode-se observar nas Figuras 14 e 15 o processo de despoldamento.

Quadro 20. Rendimento da despoldadeira

| | Fruta (kg) | Polpa (kg) | Resíduo (kg) | Rendimento (%) |
|--------------|-------------------|-------------------|---------------------|-----------------------|
| Teste 1 | 4,985 | 2,870 | 0,525 | 57,6 |
| Teste 2 | 7,355 | 4,360 | 1,145 | 59,3 |
| Média | 6,170 | 3,615 | 0,835 | 58,45 |

A diferença observada entre a massa de fruta e a somatória da massa de polpa e resíduo, representa a perda de massa de polpa no interior da despoldadeira.

Dessa forma, pode-se calcular a quantidade de acerola, aproximadamente 400kg, que deveria ser estocada em “freezer”, para realização dos testes preliminares.



Figura 14. Alimentação da despoldadeira e retirada da polpa.



Figura 15. Retirada da polpa e das sementes.

9.2 Primeiro Pré Teste – açúcar (cristal x líquido)

Pré testou-se refrigerantes produzidos com açúcar cristal e com açúcar líquido. O açúcar líquido foi conservado em câmara fria da própria faculdade a 10°C negativos. Fez-se nos refrigerantes testados análises físico-químicas e sensorial (teste triangular).

No Quadro 21 são apresentadas as análises de °Brix do xarope simples e xarope composto.

Quadro 21. Análises de °Brix do xarope simples e do xarope composto.

| Amostras / Análise | Açúcar Cristal | Açúcar Líquido |
|--------------------|----------------|----------------|
| Xarope Simples | 60,4 | 65,9 |
| Xarope Composto | 37 | 39,7 |

Pode-se observar no Quadro 22 as análises físico-químicas dos refrigerantes produzidos com açúcar cristal e com açúcar líquido.

Quadro 22. Análises físico-químicas dos refrigerantes produzidos com açúcar cristal e com açúcar líquido.

| Amostras | | pH | Acidez % m/v | Vitamina C mg/100mL | AR % m/v | ART % m/v | °Brix |
|---------------------------|--------------|-------------|-----------------|------------------------|-------------|--------------|-------------|
| Açúcar Cristal | Repetição 1 | 3,37 | 0,32 | 68,13 | 2,94 | 9,43 | 10 |
| | Repetição 2 | 3,36 | 0,32 | 73,09 | 3,36 | 9,43 | 10 |
| | Média | 3,37 | 0,32 | 70,61 | 3,15 | 9,43 | 10,0 |
| Açúcar Líquido | Repetição 1 | 3,34 | 0,20 | 73,33 | 2,25 | 9,43 | 10 |
| | Repetição 2 | 3,37 | 0,20 | 76,46 | 2,25 | 9,43 | 10 |
| | Média | 3,36 | 0,20 | 74,89 | 2,25 | 9,43 | 10,0 |

No Quadro 24 podemos observar que os valores de pH e a acidez titulável praticamente não variaram nos dois tratamentos realizados, isto é, o açúcar cristal e o líquido não interferiram nesses dois parâmetros. Os valores de pH (3,36-3,37) estão dentro da faixa dos refrigerantes citados por Tocchini e Nisida (1995), que variam de 2,3 para o tipo cola

e 3,5 para o de laranja e de maçã. Por outro lado a acidez (0,20-0,34%) dos refrigerantes de acerola pré testados, estiveram sempre acima da faixa proposta por esses autores, que varia de 0,08% para o refrigerante de laranja a 0,18 % para o refrigerante de pomelo. O teor de vitamina C foi de 70,61 mg/100 mL no refrigerante fabricado com açúcar cristal e 74,89 mg/100 mL de refrigerante produzido com açúcar líquido.

Os tratamentos realizados não interferiram nos valores de °Brix e ART, mas observou-se que o refrigerante que utilizou açúcar líquido em sua formulação apresentou o menor teor de AR (2,25%).

9.2.1 Análise sensorial

Pode-se observar, através do Quadro 23, os resultados da análise sensorial (teste triangular) dos refrigerantes produzidos com açúcar líquido e com açúcar cristal.

Quadro 23. Análise sensorial dos refrigerantes produzidos com açúcar líquido e açúcar cristal pelo teste triangular.

| | Provadores | | | | | | | | | Significância Estatística |
|-----------|------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | |
| Resultado | A | A | A | E | E | A | E | E | A | ns |

A: Acertou

E: Errou

ns: estatisticamente não significativo

Observou-se que os provadores não diferenciaram, pelo teste triangular, o refrigerante produzido com açúcar líquido daquele fabricado com açúcar cristal. Em função desses resultados, optou-se por continuar os trabalhos utilizando o açúcar cristal em virtude da sua estabilidade microbiológica e facilidade de manipulação em laboratório.

9.3 Segundo Pré Teste – emulsão

Um segundo pré teste foi realizado com emulsão comercial artificial de acerola de aroma e cor, da empresa Duas Rodas Industrial Ltda. Para este teste utilizou-se de duas concentrações diferentes desta emulsão comercial: com emulsão a 50% do recomendado pelo fabricante (4mL/10L de refrigerante); com emulsão a 100% do recomendado pelo fabricante (8mL/10L de refrigerante); contrastou-se com um refrigerante sem emulsão (0%). Fez-se nos refrigerantes testados análises físico-químicas e sensorial (teste escala hedônica estruturada).

No Quadro 24 são apresentados os valores das análises de °Brix dos xaropes simples e xaropes compostos dos refrigerantes do segundo pré teste - emulsão

Quadro 24. Análises de °Brix do xarope simples e do xarope composto, do segundo pré teste.

| Amostras | 0% | 50% | 100% |
|-----------------|-----------|------------|-------------|
| Xarope Simples | 60,4 | 60,4 | 60,4 |
| Xarope Composto | 37 | 37,4 | 37 |

Observa-se no Quadro 25 as análises físico-químicas dos refrigerantes produzidos com emulsão comercial e sem emulsão comercial.

Quadro 25. Análises físico-químicas dos refrigerantes produzidos com e sem emulsão comercial.

| Amostras | | pH | Acidez % m/v | Vitamina C mg/100mL | AR % m/v | ART % m/v | °Brix |
|-----------------|--------------|-------------|-------------------------|--------------------------------|---------------------|----------------------|--------------|
| 0% | Repetição 1 | 3,37 | 0,32 | 68,13 | 2,94 | 9,43 | 10,0 |
| | Repetição 2 | 3,36 | 0,32 | 73,09 | 3,36 | 9,43 | 10,0 |
| | Média | 3,37 | 0,32 | 70,61 | 3,15 | 9,43 | 10,0 |
| 50% | Repetição 1 | 3,39 | 0,27 | 79,93 | 3,42 | 9,62 | 9,9 |
| | Repetição 2 | 3,38 | 0,27 | 78,50 | 3,42 | 9,62 | 9,9 |
| | Média | 3,39 | 0,27 | 79,21 | 3,42 | 9,62 | 9,9 |
| 100% | Repetição 1 | 3,34 | 0,34 | 78,87 | 2,86 | 9,9 | 10,1 |
| | Repetição 2 | 3,35 | 0,34 | 76,60 | 2,84 | 9,9 | 10,0 |
| | Média | 3,35 | 0,34 | 77,73 | 2,85 | 9,90 | 10,1 |

Observa-se, através do Quadro 25, que os valores de pH e a acidez praticamente não variaram em todos os tratamentos realizados, isto é, a emulsão comercial não interferiu nesses dois parâmetros. Os valores de pH (3,35-3,39) estão dentro da faixa dos refrigerantes citados por Tocchini e Nisida (1995). Neste teste também observou-se que a acidez (0,27-0,34%) esteve sempre acima da faixa proposta por esses autores.

O teor de vitamina C variou entre 70,61 a 79,21 mg/100mL de refrigerante, sendo que os maiores valores foram encontrados nos refrigerantes que utilizaram a emulsão comercial. Uma hipótese para explicar esse tipo de resultado é a presença de antioxidante na emulsão comercial utilizada. Os tratamentos realizados não interferiram nos valores de °Brix e ART.

9.3.1 Análise sensorial

A análise sensorial dos refrigerantes produzidos com emulsão comercial e sem emulsão comercial, é apresentada no Quadro 26.

Quadro 26. Aceitabilidade dos refrigerantes produzidos com e sem emulsão comercial, realizada pelo teste de escala hedônica estruturada.

| Concentrações da emulsão | Provadores | | | | | | | | | Média |
|--------------------------|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | |
| 0% | 6,5 | 6,0 | 4,0 | 8,0 | 4,0 | 4,0 | 5,0 | 4,0 | 9,0 | 5,61a |
| 50% | 7,0 | 5,0 | 7,0 | 6,0 | 8,0 | 6,0 | 7,0 | 6,0 | 8,0 | 6,67a |
| 100% | 8,0 | 4,0 | 5,0 | 7,0 | 6,0 | 5,5 | 6,0 | 7,0 | 8,0 | 6,28a |

Verificou-se que a aceitabilidade dos refrigerantes produzidos com e sem emulsão comercial foi a mesma. Embora os refrigerantes tenham apresentado a mesma aceitabilidade, eles apresentaram características sensoriais completamente diferentes entre si: os refrigerantes que fizeram uso da emulsão, apresentaram maior intensidade de cor bem como

de aroma e sabor típico da emulsão utilizada. Esses refrigerantes apresentaram características sensoriais mais próximas dos refrigerantes comerciais.

A continuidade dos trabalhos foi realizada utilizando-se de aromatizante de acerola (4mL/10L de refrigerante) e de corantes artificiais: amarelo crepúsculo (0,04g/L de refrigerante) e vermelho “bordeaux” (0,006g/L de refrigerante), sendo que ambos os aditivos eram da empresa Duas Rodas, pelo fato da empresa não mais fabricar a emulsão comercial.

9.4 Terceiro Pré Teste – carbonatação

Foram pré testados diferentes tempos e temperaturas de carbonatação da água e posteriormente dos refrigerantes. Foi iniciado com cinco dias de amostragens diárias. Preparado para este teste 20litros de água declorada, refrigerada a 5°C e carbonatada até 2,5 kgf/cm². Foram retiradas três amostras diárias durante os cinco dias, observando o mesmo horário de cada coleta e pressurizando novamente o tanque (até 2,5 kgf/cm²) a cada dia. Para o segundo teste de carbonatação foram colocadas no tanque de carbonatação um reator com enchimento (vidro de forma esférica com 1,5 cm de diâmetro), conforme sugerido por Tocchini e Nisida (1995). Foram preparados 20litros de água declorada, refrigerada a 5°C e pressurizada até 2,5 kgf/cm². Foram retiradas três amostras diárias durante três dias. Observando o mesmo horário da coleta e pressurizando novamente o tanque de carbonatação (até 2,5 kgf/cm²) a cada dia. No terceiro teste de carbonatação preparou-se 20litros de água declorada, refrigerada a 5°C e pressurizada até 2,7 kgf/cm². Foram retiradas do tanque de carbonatação duas amostras de hora em hora, durante quatro horas. Nesse teste não foi refeita pressurização, como nos outros testes anteriores, deixou-se a pressão diminuir a cada

amostragem. Repetiu-se este teste variando a temperatura de 5°C para 2°C e pressurizando novamente o tanque a cada amostragem.

Foram testados refrigerantes misturados na garrafa e no tanque. Para o misturado na garrafa, preparou-se 10 litros de água dechlorada, refrigerada a 2°C e pressurizada à 2,5 kgf/cm², e em seguida formulou-se o xarope composto para um refrigerante de 10°Brix. Procedeu-se a mistura do xarope composto com a água carbonatada na garrafa de vidro de 600ml, controlando as massas através de uma balança granataria. Nas mesmas condições, foi preparado um refrigerante no tanque de carbonatação. Em ambos os testes, esperou-se cinco horas para retirar três amostras e compará-las.

Testou-se a fabricação de refrigerantes com amostragens no tanque de carbonatação de uma hora e uma hora e meia de pressurização, para determinação do teor de gás carbônico. Foi preparado para este teste 10 litros de água dechlorada, refrigerada a 1,4°C.

9.4.1 Carbonatação de água – amostragens diárias

Os resultados do teste de carbonatação, no tanque, da água durante cinco dias seguem-se no Quadro 27.

Quadro 27. Resultado do teste de carbonatação da água durante cinco dias

| Dias | 1 ^a | 1b | 2 ^a | 2b | 3 ^a | 3b | 4 ^a | 4b | 5 ^a | 5b | 5a* | 5b* |
|------------------------|----------------|------|----------------|------|----------------|------|----------------|------|----------------|------|------|------|
| CO ₂ v/v | 1,70 | 1,75 | 2,00 | 1,95 | 2,45 | 2,00 | 2,15 | 2,20 | 2,10 | 2,30 | 3,25 | 3,40 |

* nestas amostragens o tanque de carbonatação foi despressurizado

Pode-se observar, no Quadro 27, que após o segundo dia de carbonatação não houve mais aumento no volume de gás, mantendo-se por volta de 2,2 v/v CO₂ até o quinto dia. Observa-se que no último dia da coleta, a despressurização lenta do tanque de carbonatação resultou em maior concentração de gás carbônico no refrigerante.

9.4.2 Carbonatação de água com reator com enchimento

O Quadro 28 apresenta os resultados do teste de carbonatação da água com efeito do reator com enchimento.

Quadro 28. Resultado do teste de carbonatação da água com reator com enchimento.

| Dias | 1 ^a | 1b | 2 ^a | 2b | 3 ^a | 3b |
|---------------------|----------------|------|----------------|------|----------------|------|
| CO ₂ v/v | 1,80 | 1,90 | 2,10 | 2,00 | 2,15 | 2,30 |

Observou-se que no teste, ilustrado no Quadro 28, não houve diferença no volume de gás nos refrigerantes engarrafados após a carbonatação com reator com enchimento. Em função dos resultados, optou-se por continuar os trabalhos sem o uso do reator com enchimento.

9.4.3 Carbonatação de água com amostragem de hora em hora na temperatura de 5°C

Os resultados do teste de carbonatação da água de hora em hora na temperatura de 5°C, seguem-se no Quadro 29.

Quadro 29. Resultados do teste de carbonatação da água de hora em hora à 5°C.

| Horas | 0h a | 0h b | 1ha | 1hb | 2ha | 2hb | 3ha | 3hb | 4ha | 4hb | 4ha* | 4hb* |
|---------------------|------|------|-----|------|-----|------|------|------|-----|-----|------|------|
| CO ₂ v/v | 2,0 | 2,2 | 2,0 | 2,25 | 1,9 | 2,45 | 2,05 | 2,20 | 2,1 | 2,2 | 2,9 | 3,15 |

* nestas amostragens o tanque de carbonatação foi despressurizado

Neste teste, apresentado no Quadro 29, foi observado aumento na concentração de CO₂ do refrigerante quando o tanque foi despressurizado por completo, no final das quatro horas.

9.4.4 Carbonatação de água com amostragem de hora em hora na temperatura de 2°C

O Quadro 30 apresenta os resultados do teste de carbonatação da água de hora em hora à temperatura de 2°C

Quadro 30. Resultados do teste de carbonatação da água de hora em hora à 2°C.

| Horas | 1h ^a | 1h ^b | 1h ^{c*} | 1h ^{d*} | 2h ^a | 2h ^b | 2h ^{c*} | 2h ^{d*} | 3h ^a | 3h ^b | 3h ^{c*} | 3h ^{d*} | 4h ^a | 4h ^b | 4h ^{c*} | 4h ^{d*} |
|---------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
| CO ₂ v/v | 2,1 | 1,9 | 2,2 | 2,45 | 2,2 | 2,3 | 2,6 | 2,6 | 1,9 | 2,3 | 2,95 | 2,9 | 2,5 | 2,3 | 3,3 | 2,9 |

* nestas amostragens o tanque de carbonatação foi despressurizado.

Confirma-se através deste teste que quando o tanque é despressurizado aumenta-se o teor de gás carbônico nos refrigerantes, e que a concentração é proporcional ao tempo de carbonatação.

9.4.5 Carbonatação do refrigerante – garrafa x tanque

Os resultados dos testes de carbonatação do refrigerante preparado na garrafa e no tanque, são apresentados no Quadro 31.

Quadro 31. Resultados dos testes de carbonatação do refrigerante preparado na garrafa e no tanque.

| Amostra | Garrafa | Garrafa | Garrafa | Tanque | Tanque | Tanque |
|---------------------|---------|---------|---------|--------|--------|--------|
| CO ₂ v/v | 1,0 | 1,9 | 1,5 | 2,3 | 2,3 | 2,3 |

Observa-se através dos resultados ilustrados no Quadro 31 que na garrafa, além de ser extremamente dificultoso trabalhar com massas e volumes preestabelecidos, houve maior perda de CO₂ (1,0 – 1,9 – 1,5) e maior variabilidade de resultados de carbonatação em relação ao procedimento de carbonatação no tanque (2,3 – 2,3 – 2,3).

9.4.6 Carbonatação do refrigerante com amostragens de uma hora e uma hora e meia e à temperatura de 1,4°C

Os resultados dos testes de carbonatação do refrigerante com amostragens de uma hora e uma hora e meia, na temperatura de 1,4°C, seguem-se no Quadro 32.

Quadro 32. Resultados dos testes de carbonatação do refrigerante com amostragens de uma hora e uma hora e meia, na temperatura de 1,4°C.

| Horas | 1 | 1 | 1,5 | 1,5 |
|---------------------------|----------|----------|------------|------------|
| CO₂ v/v | 1,9 | 1,6 | 2,3 | 2,5 |

Observou-se, através dos resultados apresentados no Quadro 32, que abaixando a temperatura para 1,4°C e com uma hora e meia de carbonatação no tanque despressurizado, obteve-se valores de teor de CO₂ de refrigerantes comerciais (Carbonatação, s.n.t.).

9.5 Quarto Pré Teste – emulsão x corante

Foi realizado um teste com a emulsão comercial artificial de acerola de aroma e cor, na concentração de 50% do recomendado pelo fabricante (4 mL/10L de refrigerante), e com um corante artificial de acerola, na concentração de 75% do recomendado pelo fabricante, 30 mL/10L de refrigerante. Foi feito nestes refrigerantes testados análises físico-químicas e sensorial (teste triangular).

Pode-se observar através do Quadro 33, as análises de °Brix do xarope simples e xarope composto.

Quadro 33. Análises de °Brix do xarope simples e do xarope composto.

| Análise / amostra | | Emulsão | Corante |
|--------------------------|-----------|----------------|----------------|
| Xarope Simples | °Brix | 72,1 | 72,1 |
| | Densidade | 1,36344 | 1,36344 |
| Xarope Composto | °Brix | 31,2 | 39,8 |
| | Densidade | 1,13488 | 1,7799 |

No Quadro 34 apresentam-se as análises físico-químicas dos refrigerantes.

Quadro 34. Análises físico-químicas dos refrigerantes.

| Amostras | | pH | Acidez % m/v | AR% m/v | ART % m/v | °Brix | CO ₂ v/v |
|----------|--------------|-------------|-----------------|-------------|--------------|------------|------------------------|
| Emulsão | Repetição 1 | 3,51 | 0,096 | 1,91 | 8,1 | 9,7 | 2,3 |
| | Repetição 2 | 3,51 | 0,096 | 1,89 | 8,3 | 9,7 | 2,3 |
| | Média | 3,51 | 0,096 | 1,90 | 8,2 | 9,7 | 2,3 |
| Corante | Repetição 1 | 3,63 | 0,099 | 2,15 | 9,14 | 9,8 | 2,5 |
| | Repetição 2 | 3,63 | 0,099 | 2,13 | 9,44 | 9,8 | 2,5 |
| | Média | 3,63 | 0,099 | 2,14 | 9,29 | 9,8 | 2,5 |

A composição físico-química dos refrigerantes não foram alteradas com a adição da emulsão comercial e do corante comercial, conforme apresentadas no Quadro 34.

9.5.1 Análise sensorial

O Quadro 35 apresenta a análise sensorial dos refrigerantes produzidos com emulsão comercial e com corante, realizada pelo teste de escala hedônica.

Quadro 35. Aceitabilidade dos refrigerantes produzidos com emulsão comercial e corante.

| Provadores | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | Média |
|----------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|-------------|
| Emulsão | 6 | 7 | 7 | 8 | 6 | 8 | 9 | 7 | 7 | 4 | 6,9a |
| Corante | 4 | 6 | 5 | 5 | 4 | 6 | 6 | 2 | 5 | 7 | 5,0b |

Os provadores preferiram o refrigerante produzido com emulsão comercial a 50% em relação ao fabricado com corante comercial.

9.6 Quinto Pré Teste – determinação do valor de pasteurização equivalente (VPE)

Foi fabricado um refrigerante, nas mesmas condições dos testes anteriores modificando apenas o °Brix para 11, a fim de testar a pasteurização em garrafa no banho de imersão com valor de pasteurização equivalente (VPE) correspondente a 88 °C / 45 segundos, como planejado. Observou-se que quando a temperatura interna do líquido da

garrafa atingira 79°C as garrafas começavam a estourar. Foi fabricado novamente, então, um refrigerante nas mesmas condições do anterior (11 °Brix) e testados dois valores de VPE, 50 e 100 VPE acumulado, utilizando a fórmula de cálculo para os VPE, segundo Ramaswamy e Abbatemarco (1996). Estes refrigerantes foram testados através de análises físico-químicas, sensorial (teste escala hedônica) e microbiológica.

9.6.1 Determinação do valor de pasteurização equivalente (VPE)

São apresentados nas Figuras 16 e 17, os gráficos de pasteurização de 50 e 100 VPE, pré testados para fabricação de refrigerantes.

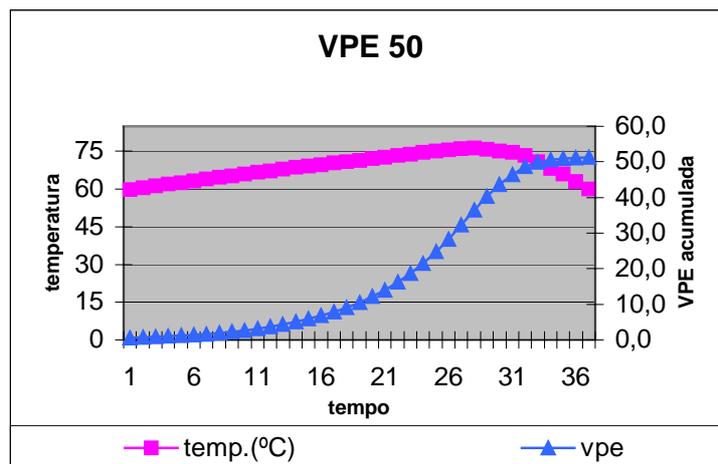


Figura 16. Gráfico da Pasteurização de 50 VPE

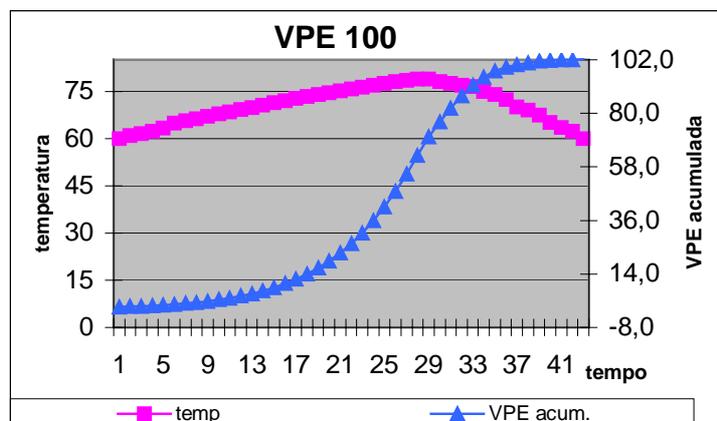


Figura 17. Gráfico da Pasteurização de 100 VPE

Podemos observar na Figura 16 que a temperatura chegou ao máximo de 76,3 °C com tempo total de 36 minutos, com 51,2VPE acumulada ao passo que na Figura 17 observou-se uma temperatura máxima de 78,8°C com um tempo total de 42 minutos, com 101,9 VPE acumulada. Baird e Kooiman (1980) citaram que para refrigerante de laranja, o binômio tempo – temperatura pode variar de 10 a 20 minutos e 65 a 79°C, mas, não fez referência ao VPE usado para esse refrigerante.

No Quadro 36 podemos observar análises físico-químicas do xarope simples e do xarope composto

Quadro 36. Análises do xarope simples e do xarope composto.

| Amostra | °Brix | pH | Densidade D _{20/20} | Acidez % m/v | AR % m/v | ART % m/v | Vitamina C mg/100mL | Aparência/ Sabor |
|-----------------|-------|------|---------------------------------|-----------------|-------------|--------------|------------------------|---------------------|
| Xarope Simples | 61,4 | 6,15 | 1,297 | 0,02 | 0,00 | 69,43 | 0,00 | característicos |
| Xarope Composto | 38,6 | 3,35 | 1,172 | 0,48 | 10,19 | 40,83 | 1.003,45 | característicos |

É apresentado, através do Quadro 37, as análise físico-químicas dos refrigerantes pasteurizados com 50 e 100VPE.

Quadro 37. Análises físico-químicas dos refrigerantes.

| Amostra / Análise | ° Brix | pH | Densidade D_{20/20} | Acidez % m/v | AR % m/v | ART % m/v | Vitamina C mg/100mL | CO₂ v/v |
|------------------------------|---------------|-----------|--|-------------------------|---------------------|----------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| 50 VPE | 11,3 | 3,27 | 1,046 | 0,15 | 4,68 | 10,69 | 358,91 | 2,4 |
| 100VPE | 11,4 | 3,31 | 1,046 | 0,16 | 4,96 | 10,69 | 328,52 | 2,4 |

Observa-se que os tratamentos de pasteurização testados não alteram quimicamente os refrigerantes, apenas foi notada uma redução de 8,5% de vitamina C no tratamento 100 VPE.

9.6.2 Análise microbiológica

Para bolores e leveduras, o resultando foi de zero UFC/mL de refrigerante, para ambos os tratamentos. Obteve-se resultado negativo para coliformes totais em ambos os testes de pasteurização. Os dois tratamentos testados de pasteurização foram eficazes no controle microbiológico.

9.6.3 Análise sensorial

Observa-se, através do Quadro 38, a análise sensorial dos refrigerantes conservados por pasteurização com 50VPE e 100 VPE, realizada através do teste de escala hedônica.

Quadro 38. Aceitabilidade dos refrigerantes conservados por pasteurização com 50VPE e 100 VPE.

| Provedores | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | Média |
|-------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|--------------|
| 50 VPE | 6 | 7 | 7 | 7 | 7 | 9 | 6 | 7 | 7 | 7,0a |
| 100 VPE | 7 | 5 | 6 | 7 | 5 | 9 | 7 | 6 | 6 | 6,4a |

Através do Quadro 38, observa-se que a aceitabilidade sensorial dos dois tratamentos de pasteurização foi a mesma, optando-se assim utilizar a pasteurização com

50VPE, por demandar menos tempo, menos energia, preservar melhor a vitamina C e garantir qualidade microbiológica.

9.7 Sexto Pré Teste - concentrações do conservante

Foi feito um último pré teste para identificar a concentração mínima e segura do conservante benzoato de sódio, que deveria ser adotado para dar andamento ao trabalho. Fabricou-se um refrigerante nas mesmas condições dos anteriores, porém com °Brix 10, retirou-se do tanque de carbonatação três porções de 100ml de refrigerante, adicionou-se benzoato de sódio nas seguintes concentrações: a primeira para atingir o valor da concentração máxima indicado para refrigerantes segundo Antunes e Canhos (s.d.), 0,1%; segunda de 0,05% e a última de 0,025%. Como o objetivo deste pré teste foi verificar a melhor concentração de benzoato de sódio, não se realizou nestes refrigerantes análises físico-químicas e nem análise sensorial, somente a análise microbiológica.

A análise microbiológica de refrigerantes produzidos com diferentes concentrações de benzoato de sódio apresenta-se no Quadro 39.

Quadro 39. Análise microbiológica dos testes com diferentes concentrações de benzoato de sódio

| Concentrações do Benzoato de Sódio | 0,025% | 0,05% | 0,1% |
|---|---------------|--------------|-------------|
| Bolores e Levedura, UFC/mL | 136 | 85 | 18 |

Observa-se que tratamento 0,1% foi o único que se enquadrou Quadrou nas Portarias nº 01/87 e 410/74 citadas por Silva et al. (1997), que indica o número máximo de 20 UFC / mL de bolores e leveduras para os refrigerantes.

Em trabalho realizado por Hoffmann et al. (1997), com as mesmas concentrações de benzoato de sódio (0,025%, 0,05% e 0,1%), esses autores verificaram que na concentração de 0,025%, houve crescimento de cinco colônias dos seguintes gêneros:

Candida, *Rhodotorula* e *Saccharomyces*; sendo que nas demais concentrações não houve crescimento algum.

Para o teste de coliforme total obteve-se resultado negativo em ambos os testes de conservação.

9.8 Comparação de métodos para análise de vitamina C

Foram testados dois métodos para análise de vitamina C. O primeiro testado foi o método segundo o Instituto Adolfo Lutz (1985) e o segundo foi conforme Silva (1999). Ambos são métodos titulométricos, o primeiro com Iodato de Potássio utilizando amido como indicador e o segundo com DCFI (dicloroindofenol). As amostras analisadas foram de suco de acerola “in natura”.

No Quadro 40 observa-se os resultados da análise de vitamina C realizada por dois métodos diferentes de análise.

Quadro 40. Resultados das análises de vitamina C realizados por dois métodos diferentes.

| Amostra | Iodato de Potássio mg/100mL | DCFI mg/100mL |
|------------------|--|--------------------------|
| Amostra 1 | 907 | 1.569 |
| Amostra 2 | 753 | 1.547 |
| Amostra 3 | 837 | 1.557 |
| Amostra 4 | 934 | 1.575 |
| DP | 80,92 | 12,49 |
| CV (%) | 9,43 | 0,80 |
| Média | 858 | 1.562 |

Observa-se no Quadro 40, que o primeiro método de análise de vitamina C (Iodato de Potássio) é um método com maior variabilidade (CV = 9,43%), seus resultados variaram entre 753 a 934 mg/100mL, enquanto que o método com DCFI variou consideravelmente menos (CV = 0,80%), 1.547 a 1.575 mg/100mL. Ainda observa-se que os resultados apresentados pelos dois métodos de análise são muito diferentes para uma mesma

amostra de suco de acerola. O primeiro método é utilizado para qualquer análise de vitamina C e o segundo foi adaptado para acerola. Em função dos resultados encontrados, optou-se por adotar o método de DCFI para a análise de vitamina C na acerola, xarope composto e nos refrigerantes.

9.9 Análise de refrigerantes comerciais

Análises físico-químicas de refrigerantes comerciais a fim de compará-los com os refrigerantes de acerola testados são mostrados no Quadro 41.

Quadro 41. Análise físico-química de refrigerantes comerciais

| Amostras | pH | “ratio” | Acidez % m/v | °Brix | AR% m/v | ART% m/v |
|----------------------|-----|---------|--------------|-------|---------|----------|
| Refrigerante Guaraná | 2,8 | 90,9 | 0,11 | 10,0 | 4,78 | 8,55 |
| Refrigerante Laranja | 3,3 | 70,6 | 0,17 | 12,0 | 3,08 | 12,05 |

9.10 Dados da avaliação econômica

Quadro 42. Matéria-prima

Matéria-prima

| | | | |
|----------------------|--------------------|------------------|--------------------------|
| Acerola | Quantidade (kg) | Custo (R\$) / kg | Custo Final (R\$) |
| 10 °Brix | 1,87 | 1,50 | 2,81 |
| 11 °Brix | 1,88 | 1,50 | 2,82 |
| 12 °Brix | 1,89 | 1,50 | 2,83 |
| Açúcar | Quantidade (kg) | Custo (R\$) / kg | Custo Final (R\$) |
| 10 °Brix | 1,44 | 0,69 | 0,99 |
| 11 °Brix | 1,61 | 0,69 | 1,10 |
| 12 °Brix | 1,77 | 0,69 | 1,21 |
| Água | Quantidade (kg) | Custo (R\$) / kg | Custo Final (R\$) |
| 10 °Brix | 12,29 | 0,00251 | 0,031 |
| 11 °Brix | 12,18 | 0,00251 | 0,031 |
| 12 °Brix | 12,07 | 0,00251 | 0,030 |
| Gás Carbônico | Quantidade (L/mim) | Custo (R\$) / kg | Custo Final (R\$) |
| 10 °Brix | 2,50 | 4,00 | 0,238 |
| 11 °Brix | 2,50 | 4,00 | 0,238 |
| 12 °Brix | 2,50 | 4,00 | 0,238 |

onde:

$$\text{Tempo (min.)} = 12 \quad d \text{ CO}_2 \text{ (kg/L)} = 0,00198 \quad \text{Massa(kg) de CO}_2 = 0,0594$$

9.11 Ficha para avaliação em Escala Hedônica

NOME: _____ DATA: ____/____/____

PRODUTO: _____ EXPERIMENTO N°: _____

Avalie cada amostra usando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou.

1. Desgostei muitíssimo
2. Desgostei muito
3. Desgostei regularmente
4. Desgostei ligeiramente
5. Indiferente
6. Gostei ligeiramente
7. Gostei regularmente
8. Gostei muito
9. Gostei muitíssimo

Número da amostra**Valor**

Comentários:

9.12 Ficha para avaliação em teste Triangular – diferença

NOME: _____ DATA ____/____/____

PRODUTO: _____ EXPERIMENTO N° _____

Duas amostras são iguais e uma é diferente. Coloque um círculo ao redor da amostra diferente.

_____Amostras_____

Comentários:
