DENISE SAYURI SHIGEOKA

**“TRATAMENTO TÉRMICO MÍNIMO DO SUCO DE
LARANJA NATURAL: ESTUDO DA VIABILIDADE DE
ARMAZENAMENTO EM LATAS DE ALUMÍNIO”**

Dissertação apresentada à Escola
Politécnica da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de Mestre
em Engenharia.

Área de Concentração
Engenharia Química

Orientadora
Carmen Cecília Tadini

SÃO PAULO

1999

Shigeoka, Denise Sayuri

Tratamento térmico mínimo do suco de laranja natural:
Estudo da viabilidade de armazenamento em latas de
alumínio. São Paulo, 1999.

55p.

Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica da
Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia
Química.

1. Suco de laranja 2. Alimentos - Embalagem 3.
Alimentos - Tratamento térmico I. Universidade de São
Paulo. Escola Politécnica. Departamento de Engenharia
Química II. t.

A meus Pais,

Com carinho

AGRADECIMENTOS

À *Prof. Dra. Carmen Cecilia Tadini*, minha Orientadora, pela constante dedicação e incentivo.

À *Latas de Alumínio S.A. - Latasa*, pelo fornecimento das latas de alumínio, empréstimo da seladora e suporte técnico nos dias de processamento do suco.

Ao *Prof. Pedro Vitoriano de Oliveira* do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, pelo empenho na viabilização do método e determinação do conteúdo de íons alumínio em suco de laranja.

À *Eng. Gabriela Gastaldo Badolato*, aluna da pós-graduação do Departamento de Engenharia Química EPUSP, pelo incansável auxílio e apoio na parte experimental do trabalho.

A *Bianca Natacci Vieira*, aluna do 5º ano do curso de Engenharia de Alimentos da Escola de Engenharia Mauá e estagiária do Departamento de Engenharia Química da EPUSP, pelo auxílio na parte experimental do trabalho.

Às técnicas *Lindamar Maria Fragoso* e *Flávia Luzia Aparecida dos Santos*, pela importante contribuição na parte experimental do trabalho.

Ao grande amigo *Claudir Shinji Wada*, pelo incentivo permanente.

Aos colegas de pós-graduação que auxiliaram nos dias de processamento do suco.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram na execução deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

“ABSTRACT”

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1. MATÉRIA-PRIMA	11
3.2. EMBALAGEM	11
3.3. EQUIPAMENTOS	14
3.4. REAGENTES	17
3.5. PARTE EXPERIMENTAL.....	19
3.5.01. Montagem do trocador de calor.....	19
3.5.02. Extração do suco	20
3.5.03. Processamento térmico	20
3.5.04. Amostragem.....	21
3.6. LIMPEZA E ESTERILIZAÇÃO DO MATERIAL	23
3.7. PREPARAÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA	23
3.7.01. Orange serum agar (item 3.4.12).....	23

3.7.02. <i>Potato dextrose agar (item 3.4.13) acidificado</i>	24
3.8. PREPARAÇÃO DO DILUENTE	25
3.8.01. <i>Solução estoque</i>	25
3.8.02. <i>Diluyente</i>	25
3.9. PREPARO DAS DILUIÇÕES PARA ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	26
3.10. MÉTODO DE CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS MESOFÍLICAS	27
3.11. MÉTODO DE CONTAGEM DE LEVEDURAS E BOLORES.....	27
3.12. DETERMINAÇÃO DO PH.....	28
3.13. DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TITULÁVEL.....	28
3.14. DETERMINAÇÃO DE °BRIX	28
3.15. DETERMINAÇÃO DE “RATIO”	28
3.16. DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE, COM CORREÇÃO DE TEMPERATURA.....	29
3.17. DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS TOTAIS	29
3.18. DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS INSOLÚVEIS EM ÁGUA	30
3.18.01. <i>Preparação do papel de filtro</i>	30
3.18.02. <i>Determinação dos sólidos insolúveis em água</i>	31
3.19. DETECÇÃO DE ÍONS ALUMÍNIO	32
3.19.1. <i>Calibração do equipamento</i>	32
3.19.2. <i>Filtragem das amostras</i>	32
3.19.3. <i>Detecção íons de alumínio</i>	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5. CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.1: Descrição técnica da lata utilizada nos ensaios.....	12
FIGURA 3.2: Descrição técnica da tampa utilizada nos ensaios.....	12
FIGURA 3.3: Principais características da lata de alumínio utilizada nos ensaios.....	13
FIGURA 3.4: Representação esquemática do arranjo utilizado no trocador de calor a placas.....	19
FIGURA 3.5: Esquema de coleta das amostras de suco de laranja a serem analisadas a cada 14 dias durante 57 dias de armazenamento em geladeira.....	22
FIGURA 3.6: Representação esquemática das diluições sucessivas das amostras.....	26
FIGURA 4.1: Contagem total de bactérias mesofílicas em relação à contagem inicial (N/N_0) para a temperatura de processo 82,5°C em função do tempo de armazenamento do suco acondicionado em latas de alumínio em temperatura refrigerada.	46
FIGURA 4.2: Contagem total de bactérias mesofílicas em relação à contagem inicial (N/N_0) para a temperatura de processo 87,5°C em função do tempo de armazenamento do suco acondicionado em latas de alumínio em temperatura refrigerada.	47
FIGURA 4.3: Contagem total de bactérias mesofílicas em relação à contagem inicial (N/N_0) após 1 dia de processo para o tempo de processo 35 s em função da temperatura de processo.	48

FIGURA 4.4: Contagem de leveduras e bolores em relação à contagem inicial (N/N_0)
após 1 dia de processo para os tempos de processo 35 s e 45 s em
função da temperatura de processo.49

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1: Características técnicas do trocador de calor a placas, marca APV, modelo JÚNIOR.....	15
TABELA 3.2: Temperaturas monitoradas durante o processamento térmico.	21
TABELA 3.3: Composição do meio Orange serum agar.....	23
TABELA 3.4: Composição do meio Potato dextrose agar.....	24
TABELA 4.1: Parâmetros temperatura-tempo obtidos no processamento do suco de laranja.....	34
TABELA 4.2: Conteúdo de sólidos totais (%) e sólidos insolúveis (%) do suco de laranja para cada condição de ensaio.	35
TABELA 4.3: Valores de pH obtidos para cada condição de ensaio durante o tempo de armazenamento do suco em lata de alumínio.	36
TABELA 4.4: Valores de °Brix obtidos para cada condição de ensaio durante o tempo de armazenamento do suco em lata de alumínio.....	37
TABELA 4.5: Valores de acidez titulável (%) obtidos para cada condição de ensaio durante o tempo de armazenamento do suco em lata de alumínio.....	38
TABELA 4.6: Valores de “ratio” (relação °Brix/acidez titulável) obtidos para cada condição de ensaio durante o tempo de armazenamento do suco em lata de alumínio.....	39
TABELA 4.7: Conteúdo de íons alumínio (µg/L) detectado para cada condição de ensaio durante o tempo de armazenamento do suco em lata de alumínio.	40

TABELA 4.8: Contagem total de bactérias mesofílicas (UFC/mL) para cada condição de ensaio durante o tempo de armazenamento do suco em lata de alumínio.....	41
TABELA 4.9: Contagem de leveduras e bolores (UFC/mL) para cada condição de ensaio durante o tempo de armazenamento do suco em lata de alumínio.	42

RESUMO

No presente projeto, foi estudada a viabilidade do uso da lata de alumínio como embalagem para suco de laranja natural submetido a tratamento térmico mínimo, através de ensaios de vida de prateleira durante um período de 57 dias, com armazenamento em geladeira. O suco foi processado em trocador de calor tipo placas às temperaturas nominais de pasteurização de 80°C e 85°C e embalado à temperatura ambiente sob atmosfera de nitrogênio em latas de alumínio revestidas com verniz protetor. As análises foram efetuadas na frequência de 14 dias (1º, 15º, 29º, 43º e 57º dia após o processamento). As respostas analisadas foram pH, °Brix, acidez titulável, “ratio”(°Brix/acidez titulável), sólidos totais, sólidos insolúveis e detecção de íons alumínio e análises microbiológicas (contagem total de bactérias mesofílicas e contagem de leveduras e bolores). As análises de variância dos resultados indicaram que as condições de processo reais estudadas (82,5°C - 35 s; 82,5°C - 45 s; 87,5°C - 35 s e 87,5°C - 45 s) não influenciaram as características físico-químicas do suco (pH, °Brix, acidez titulável, “ratio”). Durante o período de armazenamento testado (57 dias), foi verificado que não houve aumento do conteúdo de íons alumínio no suco de laranja e os valores encontrados foram abaixo do limite tolerado de ingestão semanal de alumínio (Provisional Tolerable Weekly Intake – PTWI) estabelecido pela FAO/WHO. Sob o aspecto microbiológico (contagem total de bactérias mesofílicas e contagem de leveduras e bolores), foi verificada a eficiência do processo de pasteurização. Para as condições de processo 82,5°C – 45 s e 87,5°C – 45 s, o número de bactérias mesofílicas sobreviventes diminuiu com o tempo de armazenamento. Para as condições 82,5°C – 35 s e 87,5°C – 35 s, houve aumento do número de sobreviventes a partir do 23º dia e 33º dia, respectivamente, em relação ao suco não-processado. As condições de processo empregadas indicaram, no período de armazenamento testado (57 dias), valores de contagem de leveduras e bolores inferiores ao limite máximo tolerado pela Legislação Brasileira para suco “in natura” (10^4 UFC/mL).

ABSTRACT

In this research project, minimal heat treatment was studied for fresh single- strength orange juice. The juice was packaged in aluminum cans and stored at refrigerated temperature during 57 days concerning shelf life tests. The juice was processed using a plate heat exchanger at nominal pasteurization temperatures 80°C and 85°C and packaged in aluminum varnished cans at ambient temperature, under nitrogen atmosphere. The analyses, conducted each 14 days (1st, 15th, 29th, 43rd and 57th day after the processing day), were: pH, °Brix, titratable acidity as citric acid, ratio (°Brix/ titratable acidity), total solids, water-insoluble solids, aluminum ions content and microbiological analyses (total plate count and yeast and mold count). Statistical analyses indicated that the physic-chemical characteristics of orange juice were not influenced by the real process conditions (82.5°C - 35 s; 82.5°C - 45 s; 87.5°C - 35 s and 87.5°C - 45 s). The orange juice aluminum ions content did not increase during the 57 days storage and all the values were lower than the Provisional Tolerable Weekly Intake (PTWI) established by FAO/WHO. In addition, the pasteurization process showed effective in reducing microbial load. For the temperature-time conditions 82.5°C - 45 s and 87.5°C - 45 s, the number of surviving organisms decreased as the storage period increased. However for the temperature-time conditions 82.5°C - 35 s and 87.5°C - 35 s, there was an increase of the number of surviving organisms after 23rd day and 33rd day, respectively, compared to raw orange juice. During the 57 days storage, the yeast and mold count were lower than the maximum acceptable limit established by Brazilian Legislation (10⁴ CFU/mL).

1. INTRODUÇÃO

O suco de laranja é um produto largamente consumido tanto no mercado nacional quanto no internacional, sendo o Brasil um dos maiores produtores de laranja do mundo, com destaque para o Estado de São Paulo, responsável pela maior parte da produção do país. Atualmente, a produção nacional de laranja é de aproximadamente 23.000.000 Mt por ano e o Brasil se posiciona também como um dos maiores exportadores mundiais de laranja e suco de laranja concentrado, sendo responsável por mais de 80% do suco de laranja concentrado consumido no mundo (BRASIL, 1994; FAO, 1999).

Nos últimos anos, contudo, o suco de laranja concentrado vem perdendo mercado para o suco de laranja fresco que teve seu consumo triplicado durante esta década. O suco concentrado apresenta perda na qualidade organoléptica, enquanto o suco fresco apresenta vida de prateleira limitada. Dessa forma, o suco submetido a mínimo tratamento térmico e “pronto para beber” apresenta-se como uma opção intermediária, que pode garantir tanto a qualidade físico-química bem como a qualidade microbiológica do produto, garantindo a vida de prateleira, desde que procedido corretamente (NICKDEL, 1993; FAO, 1999).

Dentre as embalagens rígidas para alimentos, o alumínio é atualmente uma alternativa promissora e tem ganho uma considerável fatia desse mercado frente a embalagens multicomponentes. Atualmente nos Estados Unidos, mais de 55% das cervejas e refrigerantes produzidos são envasados em latas de alumínio. Países como Japão, Reino Unido, Espanha, Alemanha e Austrália também vêm apresentando essa tendência (SOLER, 1989; MORGON, 1994; LATASA, 1999a).

No Brasil, a participação da lata de alumínio no mercado de bebidas era de 1% em 1990. Entretanto, em 1996 o “market share” atingiu 10%, o que demonstra a preferência do consumidor por este tipo de embalagem que atualmente faz parte do dia-a-dia do consumidor brasileiro (LATASA, 1998b).

A lata de alumínio apresenta inúmeras vantagens frente às embalagens tradicionais, tais como: boa resistência à corrosão, alta condutividade térmica, baixa massa específica e baixa toxidez ao organismo humano. Além disso, deve ser salientada a praticidade no manuseio e no transporte de alimentos armazenados neste tipo de embalagem. Entretanto, a principal vantagem da lata de alumínio é sob o aspecto ambiental, uma vez que a lata de alumínio é 100% reciclável (TADINI et al., 1996; LATASA, 1998a).

As latas recicladas são transformadas em novas latas, com grande economia de matéria-prima e energia elétrica. A cada quilo de alumínio reciclado, cinco quilos de bauxita são poupados e a reciclagem proporciona uma economia de 95% de energia elétrica, pois a reciclagem de alumínio requer somente 5 % da energia necessária para produzir a mesma quantidade de material primário. Segundo a ABAL – Associação Brasileira do Alumínio, o Brasil alcançou o índice de 66% na reciclagem de latas de alumínio no primeiro semestre de 1998, um recorde nacional. Em 1997, este índice havia sido de 64% e o Brasil já vinha se posicionando como o segundo país quanto à reciclagem de latas de alumínio, atrás somente dos Estados Unidos que apresentavam o índice de 67% (LATASA, 1998c).

A explosão no mercado de refrigerantes e cervejas em embalagens descartáveis de alumínio justifica o estudo da viabilidade do uso da lata de alumínio como alternativa

de embalagem para o suco de laranja natural submetido a tratamento térmico mínimo, “pronto para beber” (ANJOS, 1995; SCHOLZ, 1996).

No presente projeto foi estudada a viabilidade do uso da lata de alumínio como embalagem para suco de laranja natural submetido a tratamento térmico mínimo, através de ensaios de vida de prateleira durante um período de 57 dias, com armazenamento em geladeira. O suco foi processado em trocador de calor tipo placas às temperaturas nominais de pasteurização de 80°C e 85°C e embalado à temperatura ambiente sob atmosfera de nitrogênio em latas de alumínio revestidas com verniz protetor.

As análises foram efetuadas na frequência de 14 dias (1º, 15º, 29º, 43º e 57º dia após o processamento). As respostas analisadas foram pH, °Brix, acidez titulável, “ratio”(°Brix/acidez titulável), sólidos totais, sólidos insolúveis e detecção de íons alumínio, além das análises microbiológicas (contagem total de bactérias mesofílicas e contagem de leveduras e bolores). Embora tenha sido salientada a grande importância da manutenção das características organolépticas do suco de laranja processado em comparação ao suco não processado, não foram realizadas análises sensoriais, pois estas iriam requerer infra-estrutura específica e um painel treinado de degustadores dos quais o laboratório não dispõe atualmente.

2. REVISÃO DA LITERATURA

A pasteurização é um dos processos mais amplamente usados pela indústria alimentícia com vistas à destruição de microrganismos patogênicos e deterioradores. O processo de pasteurização é projetado para assegurar que cada partícula do produto receba um mínimo tratamento temperatura-tempo definido seguido de um rápido resfriamento para prevenir o crescimento de quaisquer microrganismos sobreviventes e minimizar injúrias nas propriedades organolépticas e nutricionais do produto. A pasteurização, que tem como principal objetivo matar as células vegetativas causadoras de doenças, geralmente resulta em um aumento de vida de prateleira do produto, pois o tratamento térmico também reduz o nível de bactérias deterioradoras (NICKDEL et al., 1993).

No processo de pasteurização de frutas cítricas, além do aspecto microbiológico, também se deve atentar para a elevada concentração da pectinesterase, uma enzima que catalisa a hidrólise de grupos metoxi a grupos carboxila livres e que provoca a desesterificação da pectina presente no suco. Consequentemente, a pectina com baixa metoxilação coagula com os íons cálcio presentes no suco causando a perda da turbidez (SADLER, 1992; NICKDEL, 1993).

Estudos indicam que a resistência térmica de bactérias e fungos de ocorrência comum em sucos cítricos é menor do que a resistência térmica da pectinesterase, parâmetro adotado com vistas ao mínimo tratamento térmico do suco de laranja (MURDOCK, 1952; PATRICK & HILL, 1957, 1959; apud EAGERMAN & ROUSE, 1976).

KIM et al. (1998) definiram parâmetros tempo-temperatura para a redução de 90% da atividade da pectinesterase (80°C ; 33,27s ou 85°C ; 26,08s) em pasteurização de suco de laranja natural utilizando trocador de calor tipo placas, o que não representa inativação total da enzima, mas garante danos mínimos às propriedades organolépticas. Este tratamento térmico mínimo causa perda parcial de turbidez, que é um fato que vem sendo atualmente aceito pelo consumidor.

Os microorganismos encontrados em frutos cítricos, embora não patogênicos, destroem a qualidade do alimento, tornando-o impalatável e indesejável. O alto conteúdo de ácido dos sucos cítricos evita o crescimento de microorganismos patogênicos, porém permite o desenvolvimento de bactérias lácticas, dos gêneros *Lactobacillus* e *Leuconostoc*, leveduras e fungos resistentes a ácido, cujo metabolismo produz substâncias que conferem sabor e odor indesejáveis (KIMBALL, 1991; APHA, 1992).

As bactérias do gênero *Lactobacillus* apresentam o lactato como principal produto do seu metabolismo. Outros produtos do crescimento do *Lactobacillus* são o diacetil, acetato, formato, succinato, dióxido de carbono, etanol e outros ácidos de um ou dois carbonos. O diacetil produzido pela bactéria confere um sabor amanteigado e odor indesejáveis aos sucos cítricos, que é a maior causa de rejeição dos sucos devido à deterioração. A temperatura ótima de crescimento é geralmente 30 a 40°C e o pH ótimo para crescimento é 5,5 a 5,8. As colônias são circulares, do tamanho da cabeça de um alfinete e pigmentadas, variando de alaranjadas a avermelhadas, entretanto a maioria são brancas (KIMBALL, 1991; APHA, 1992).

As bactérias do gênero *Leuconostoc*, assim como as do gênero *Lactobacillus*, também produzem ácido láctico, etanol, dióxido de carbono e diacetil. A temperatura

ótima de crescimento é a faixa de 20 a 30°C e a maioria das espécies cresce em pH 5,5 a 6,5. A maioria das espécies é aeróbio facultativa, isto é, cresce na presença ou na ausência de ar. As bactérias do gênero *Leuconostoc* formam grandes colônias circulares abobadadas, aparecendo somente na superfície do agar, com uma cor translúcida e textura suave. Algumas espécies podem se apresentar como um filme no fundo do meio sob condições anaeróbias (KIMBALL, 1991).

As colônias de leveduras são maiores do que as das bactérias e crescem mais lentamente, com temperatura ótima de crescimento na faixa de 20 a 30°C. As leveduras são geralmente mais resistentes a altas temperaturas (65 a 70°C) do que as bactérias e bolores. Estudos indicam que as leveduras mais proeminentes em sucos cítricos pasteurizados são provavelmente *Saccharomyces cerevisiae*, seguido da espécie *Rhodoturula* (conhecida como levedura rosa) e *Zygosaccharomyces*. As leveduras típicas são células pequenas e ovais (STANIER et al., 1969; KIMBALL, 1991).

Os bolores desenvolvem-se em ambientes úmidos e com disponibilidade de ar. O limite superior de temperatura para crescimento de bolor é em torno de 60°C, com tolerância de pH tão baixo quanto zero. Os bolores presentes em frutos cítricos não são considerados patogênicos, nem produzem odor ou perda de sabor em produtos sob condições normais. As espécies de bolor encontradas em suco de laranja pasteurizado comercializado são: *Aureobasidium pullulans* e espécie *Penicilium*, de coloração preta, e espécie *Cladosporium*. As colônias de bolores estão sempre na superfície e consistem de um material muito fibroso ou que lembra um algodão (KIMBALL, 1991).

FELLERS (1988) verificou que a estabilidade do suco de laranja não pasteurizado depende fundamentalmente da temperatura de armazenamento e do cultivar da laranja utilizada.

Contagens elevadas de leveduras ou bactérias ácido produtoras podem indicar fermentação do produto. Dessa forma, é necessário estabelecer limites de tolerância desses microorganismos no suco para que se possa garantir sua qualidade. A portaria n.º 01/87 do Ministério da Saúde estabelece a presença aceitável de microrganismos em sucos e refrescos “in natura”. Em 1 mL de produto, deve constar no máximo 10^4 UFC na contagem em placas de bolores e leveduras (SHARF, 1972; BRASIL, 1987).

Segundo KIMBALL (1991), existem divergências de opiniões sobre qual seria o limite para o crescimento microbiano ou qual seria a especificação de um produto contaminado. A perda de sabor e a presença de gás produzido pela fermentação são indicadores de que o crescimento microbiano ultrapassou o limite.

O nível máximo de microorganismos aceito industrialmente varia de 500 a 100.000 UFC/mL de suco. Há especificações comerciais que permitem, em 1 mL de suco, menos de 1.000 a 5.000 bactérias e menos de 10 leveduras e bolores, o que pode ser apropriado para suco pasteurizado, em que as bactérias representam a flora principal (KIMBALL, 1991).

Apesar do crescente interesse pelo produto minimamente processado, este tema ainda é bastante recente e a maioria dos trabalhos publicados com referência à análise microbiológica versa sobre sucos concentrados, sucos reconstituídos de concentrados ou sucos não-processados (ARRUDA & CARDONHA, 1998; FELLERS, 1988; FURLANETTO et al., 1982; IHA et al., 1998; NASCIMENTO & FURLANETTO, 1981; TOCCHINI et al., 1993).

No ramo das bebidas, a lata de alumínio apareceu pela primeira vez nos Estados Unidos em 1958/1959. No Brasil, o primeiro fabricante de latas de alumínio para

bebidas iniciou sua produção em janeiro de 1990 (SARTORI, 1983 apud DANTAS, 1985; LATASA, 1999b).

A lata de alumínio apresenta uma série de vantagens, dentre as quais pode-se citar a economia de espaço, de energia, bem como a economia no custo do transporte, maior rapidez no manuseio, menor perda, maior giro de estoque e maior proteção ao meio ambiente. Entretanto, o alumínio é um metal altamente suscetível à corrosão. O alumínio é um metal anfótero, ou seja, é corroído tanto por via ácida como alcalina; portanto, os materiais que têm contato direto com este metal devem ter pH neutro ou próximo disso (LATASA, 1999a).

O interesse sobre conteúdo de alumínio em alimentos se deve à possível relação entre a ingestão excessiva deste elemento e várias enfermidades como a doença de Alzheimer, conforme relata PENNINGTON (1987). Dessa forma, é necessário determinar os limites de ingestão de alumínio que constituem risco à saúde, bem como as principais fontes de alumínio na dieta alimentar. Entretanto, os dados publicados sobre o conteúdo de alumínio em alimentos apresentam uma série de inconsistências entre os vários estudos. Estas inconsistências podem refletir a variabilidade deste elemento e/ou o estado de desenvolvimento da metodologia analítica para detecção do alumínio. Dados mais antigos sobre o conteúdo de alumínio em alimentos e dietas podem ser erroneamente elevados, devido a problemas com a metodologia e/ou contaminação de alumínio no laboratório. Existem poucas referências de determinação de alumínio em alimentos, sendo que este metal já foi quantificado em chá, arroz, vegetais, ovos, folhas de cítricos e tomates (PENNINGTON, 1987; ARRUDA, 1993).

Atualmente, a maioria das determinações de alumínio é feita através de espectrometria de absorção atômica, conforme indicado em DABEKA & MCKENZIE

(1990), LIUKKONEN-LILJA & PIEPPONEN (1992), ARRUDA et al. (1993) e GRAMICCIONI et al. (1996). Entretanto, há outras técnicas disponíveis, como a espectrometria de emissão atômica de plasma induzido (ARRUDA, 1993).

Antigamente, o alumínio não era considerado um elemento de risco, sendo que a evolução toxicológica foi apresentada apenas recentemente no Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (1989), apud LIUKKONEN-LILJA & PIEPPONEN (1992). De acordo com a FAO/WHO, o limite tolerado de ingestão semanal de alumínio (Provisional Tolerable Weekly Intake – PTWI) foi estimado como 7 mg por quilograma de massa corpórea. Assim, um adulto com 60 kg pode ingerir 420 mg por semana, ou seja, 60 mg por dia. Deve ser salientado, entretanto, que este limite não diferencia indivíduos por faixa etária.

A concentração de alumínio em alimentos é tipicamente baixa, geralmente inferior a 5 mg de alumínio por quilograma de alimento (LIUKKONEN-LILJA & PIEPPONEN, 1992). Esta concentração pode ser ligeiramente mais elevada quando o alimento é cozido em utensílios de alumínio, principalmente no caso de alimentos ácidos ou salgados. Ainda assim, mesmo que todos os alimentos fossem preparadas e armazenadas em recipientes de alumínio, a ingestão de alumínio seria de aproximadamente 6 mg/dia, um valor extremamente baixo se comparado com o limite de 7 mg por quilograma de massa corpórea por semana (equivalente a 60 mg/dia para um adulto) estabelecido pela Joint FAO/WHO Committee on Food Additives (GRAMICCIONI et al., 1996).

Dessa forma, não há evidências de que a toxicidade do alumínio resulte do alumínio presente em alimentos ou do preparo dos alimentos em utensílios de alumínio. Uma revisão de relatórios publicados indica que a toxicidade do alumínio pode ser

resultado de ingestão intravenosa através de hemodiálise, por exemplo, e ingestão oral de medicamentos com alto conteúdo de alumínio. Geralmente, em indivíduos saudáveis, o excesso de alumínio nesses casos é eliminado (PENNINGTON & SCHOEN, 1995).

Um recente levantamento bibliográfico indica que pouco se sabe sobre o conteúdo de alumínio em suco de laranja. Além disso, a Legislação Brasileira não estabelece teores máximos toleráveis de alumínio para alimentos. Existe apenas um único trabalho de determinação de alumínio em suco de laranja através de espectrometria de emissão atômica em forno de grafite, segundo o qual o conteúdo de alumínio no suco é da ordem de 220-230 $\mu\text{g/L}$ (ARRUDA et al., 1993).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Matéria-prima

As laranjas da variedade pêra (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) foram obtidas no CEAGESP no período de outubro de 1998 a fevereiro de 1999.

3.2. Embalagem

O suco de laranja foi embalado em latas de alumínio fornecidas pela LATASA. As latas de alumínio utilizadas tinham capacidade de 355 mL e eram constituídas de duas peças, o corpo da lata e a tampa. A lata foi confeccionada em liga 3104-H19 e possuía revestimento interno em epoxi modificado. A tampa foi confeccionada em liga 5182-H19 e possuía abertura “stay-on-tab”, que retém o anel. Essa tampa é chamada “ecológica” pois este sistema evita o descarte do anel, reduzindo a poluição ambiental. As Figuras 3.1 e 3.2 apresentam a descrição técnica da lata e da tampa, respectivamente. A Figura 3.3 apresenta as principais características da lata de alumínio utilizada nos ensaios.

FIGURA 3.1: Descrição técnica da lata utilizada nos ensaios.

FIGURA 3.2: Descrição técnica da tampa utilizada nos ensaios.

FIGURA 3.3: Principais características da lata de alumínio utilizada nos ensaios.

3.3. Equipamentos

3.3.01. Trocador de calor a placas, marca APV, modelo JÚNIOR, com as características técnicas apresentadas na Tabela 3.1, provido dos seguintes acessórios: (APV, s.d.)

- “Holding tube” constituído de tubulação sanitária de 1” O.D. (I.D. = 22,91 mm) e volume de 977 cm³.
- Tanque de alimentação de capacidade de 70 litros e respectiva bomba centrífuga, marca APV, modelo UNI, 1 ½” x 1 ½”, motor 0,75 KW.
- Conjunto gerador de água quente, como sistema de aquecimento, constituído de: tanque misturador de 4” de diâmetro e capacidade aproximada de 3 litros; bomba de circulação centrífuga, marca KSB, modelo ETA 32-16, 40/32, motor 1,12 KW, 3500 rpm; válvula controladora de temperatura na tubulação de injeção de vapor, marca SARCO, modelo 25T, diâmetro ½”, faixa de controle 70° a 105°C.
- Sistema de água fria como fluido de resfriamento.

TABELA 3.1: Características técnicas do trocador de calor a placas, marca APV, modelo JÚNIOR.

Pressão máxima de trabalho	14,10 kgf/cm ²
Capacidade máxima	3200 l/h
Sistema de fechamento	6 parafusos de aperto
Material da placa	Aço inoxidável 316
Espessura da placa	0,71 mm
Área efetiva de troca térmica	0,0258 m ² por placa
Dimensões da placa	576 x 94 mm
Tubulação e acessórios de linha	1” (tubulação sanitária – aço inox 304; diâmetro interno 22,91 mm)

3.3.02. Máquina extratora de suco, marca FMC FRESH, com capacidade de processo de 20 frutas por minuto.

3.3.03. Sistema de aquisição de dados empregando placas de interface Advantech e programa Labtech Control Pro v.9 for Windows utilizados para monitoramento “on-line” de temperatura.

3.3.04. pHmetro, marca Metrohm, modelo E350B, com precisão 0,1, 117/220V, 50-60 Hz.

3.3.05. Refratômetro, marca CARLZEISSJENA, modelo I, precisão 0,1°Brix.

3.3.06. Autoclave, marca FABBE, modelo 103, 2500W, 220V.

3.3.07. Estufa bacteriológica, marca PRECISION SCIENTIFIC CO., 115V, 150W.

3.3.08. Estufa, marca FABBE, modelo 119, 110V, 1200W.

3.3.09. Estufa a vácuo, marca WC HERAEUS GMBH HANAU, modelo RVL 500, 220V.

3.3.10. Bomba a vácuo, marca GENERAL ELETRIC, modelo 5KC42JGIE, motor A.C., 1725 rpm, 115/230 V.

3.3.11. Refrigerador doméstico mantido a 4°C.

3.3.12. Contador de colônias digital, marca PHOENIX, modelo CP 600, 110/220V, 28W.

3.3.13. Balança digital, marca MICRONAL, modelo B-6000, precisão 0,1g, 110V, 60 Hz.

3.3.14. Balança analítica, marca CHYO, modelo JK 200, precisão 0,0001g, 220V, 60 Hz.

3.3.15. Espectrofotômetro de emissão atômica com fonte de plasma induzido (ICP-AES) com detecção seqüencial, SPECTROFLAME, marca SPECTRO ANALYTICAL INSTRUMENT.

3.3.16. Vidraria comum de laboratório.

3.3.17. Recravadeira elétrica, marca WISCONSIN ALUMINUM FOUNDRY CO., INC., modelo EI-12253, de propriedade da LATASA.

3.4. Reagentes

3.4.01. Solução de hidróxido de sódio 0,1N.

3.4.02. Solução alcoólica de fenolftaleína a 1,0% p/v.

3.4.03. Solução tampão pH $7,00 \pm 0,01$, procedência Nuclear.

3.4.04. Solução tampão pH $4,00 \pm 0,01$, procedência Nuclear.

3.4.05. Solução de ácido nítrico 0,1% v/v, preparado com ácido nítrico suprapur, procedência Merck.

3.4.06. Solução estoque contendo 1000 mg/L de Al^{3+} , preparada a partir de nitrato de alumínio, procedência Merck.

3.4.07. Água destilada e deionizada em sistema Nanopure (18,2 Ohms).

3.4.08. Cloreto de cálcio anidro para dessecador.

3.4.09. Fosfato monopotássio P.A.-A.C.S., procedência Nuclear.

3.4.10. Solução de hidróxido de sódio 1 N.

3.4.11. Solução de ácido tartárico a 10% p/v.

3.4.12. Orange serum agar (Oxoid, código CM 657).

3.4.13. Potato dextrose agar (Oxoid, código CM 139).

3.5. Parte experimental

3.5.01. Montagem do trocador de calor

O arranjo utilizado no trocador de calor a placas (item 3.3.01) para processamento térmico do suco de laranja consiste de duas seções, aquecimento e resfriamento. Como fluido de aquecimento, foi utilizada água quente e como fluido de resfriamento, água fria. O dimensionamento do arranjo do trocador de calor foi realizado através de cálculo iterativo desenvolvido no programa Visual Basic. A Figura 3.4 apresenta esquematicamente o arranjo utilizado.

FIGURA 3.4: Representação esquemática do arranjo utilizado no trocador de calor a placas.

3.5.02. Extração do suco

Após seleção e lavagem das laranjas com água (item 3.1), o suco foi extraído em uma máquina extratora FMC FRESH (item 3.3.02).

3.5.03. Processamento térmico

O suco recém-extraído (item 3.5.02) foi processado termicamente a temperaturas nominais de pasteurização de 80° e 85°C em trocador de calor a placas (item 3.3.01) com arranjo conforme apresentado no item 3.5.01. Foi realizado monitoramento “on-line” de sete temperaturas do processo, incluindo a temperatura real de pasteurização, conforme discriminado na Tabela 3.2. A aquisição de temperaturas foi realizada em tempo real, através de termopares do tipo T, previamente calibrados, e sistema de aquisição de dados empregando interface Advantech e programa Labtech Control Pro v.9 para Windows 3.11 (item 3.3.03).

A temperatura real de pasteurização foi aquela adquirida através de um termopar do tipo T inserido na entrada da seção de resfriamento, após o suco de laranja ter passado pelo “holding tube”. Foram processados, aproximadamente, 40 litros de suco de laranja para cada condição de ensaio.

TABELA 3.2: Temperaturas monitoradas durante o processamento térmico (ver Figura 3.4).

Temperatura	Descrição
T_1	Temperatura de entrada de água quente na seção de aquecimento.
T_2	Temperatura de saída de água quente da seção de aquecimento.
T_3	Temperatura de entrada de água fria na seção de resfriamento.
T_4	Temperatura de saída de água fria da seção de resfriamento.
T_5	Temperatura de entrada do suco de laranja na seção de aquecimento.
T_6	Temperatura de entrada do suco de laranja na a seção de resfriamento. Temperatura real de pasteurização.
T_7	Temperatura de saída do suco de laranja da seção de resfriamento.

3.5.04. Amostragem

O suco recém-processado (item 3.5.03) a cada uma das temperaturas foi embalado à temperatura ambiente em latas de alumínio (item 3.2), sob atmosfera de nitrogênio, necessária para conferir resistência mecânica à lata para posterior manejo, empilhamento e transporte. O fechamento das latas foi feito com o uso de recravadeira elétrica (item 3.3.17). O suco pasteurizado enlatado foi armazenado em geladeira no período total de 57 dias e análises físico-químicas e microbiológicas foram efetuadas na frequência de 14 dias (1º, 15º, 29º, 43º e 57º dia após o processamento). Análises do suco de laranja natural não processado embalado e armazenado sob as mesmas

condições do suco processado foram também conduzidas. A Figura 3.5 apresenta esquematicamente como as amostras foram coletadas.

FIGURA 3.5: Esquema de coleta das amostras de suco de laranja a serem analisadas a cada 14 dias durante 57 dias de armazenamento em geladeira.

Conforme indica a Figura 3.5, para as análises físico-químicas e microbiológicas, para cada temperatura nominal de pasteurização, foram coletadas 2 amostras, perfazendo um total de 30 amostras, sendo 10 para cada condição (suco não processado, suco pasteurizado a 80°C e suco pasteurizado a 85°C). Outras 30 amostras foram coletadas da mesma forma para a análise de detecção de íons alumínio, num total de 60 amostras.

Os ensaios de pasteurização do suco a temperaturas nominais de 80° e 85°C foram repetidos mais duas vezes, totalizando três matrizes de ensaios. Das três matrizes de ensaios, apenas nas amostras referentes às duas primeiras foram realizadas análises de detecção de íons alumínio.

3.6. Limpeza e esterilização do material

Todos os materiais utilizados para as análises microbiológicas, tais como placas de Petri, pipetas, bastões de vidro e outros, foram submetidos a limpeza com detergente, seguida de esterilização em autoclave (item 3.3.06) a 121°C durante 15 min. (APHA, 1992).

3.7. Preparação dos meios de cultura

3.7.01. Orange serum agar (item 3.4.12).

A Tabela 3.3 apresenta a composição do meio Orange serum agar.

TABELA 3.3: Composição do meio Orange serum agar.

Componente	g/L
Triptose	10,0
Extrato de levedura	3,0
Suco de laranja (equivalente em sólidos)	3,5
Glicose	4,0
Fosfato dipotássico	2,5
Ágar	14,0

Foram pesados 37 g do meio de cultura desidratado (item 3.4.12) e suspendidos em 1 L de água destilada fria em um béquer de capacidade de 2 L. O meio de cultura foi transferido para um erlenmeyer com capacidade de 2L e levado à ebulição até dissolução completa. Alíquotas de 20 mL foram vertidas em tubos de ensaio providos de rodilhão e em seguida os tubos foram esterilizados em autoclave (item 3.3.06) a 121°C durante 15 minutos. Os tubos assim preparados foram conservados em geladeira (item 3.3.11) (OXOID, 1995).

3.7.02. Potato dextrose agar (item 3.4.13) acidificado.

A Tabela 3.4 apresenta a composição do meio Potato dextrose agar.

TABELA 3.4: Composição do meio Potato dextrose agar.

Componente	g/L
Extrato de batata	4,0
Glicose	20,0
Ágar	15,0

Foram pesados 39 g do meio de cultura desidratado (item 3.4.13) e suspendidos em 1 L de água destilada fria em um béquer de 2L de capacidade. O meio de cultura foi transferido para um erlenmeyer de 2L de capacidade e levado à ebulição até dissolução completa. O erlenmeyer foi tampado com um rodilhão e esterilizado em autoclave (item

3.3.06) a 121°C durante 15 minutos. Após a esterilização, o meio foi resfriado a 47-50°C e o pH do meio foi acertado a 3,5 com solução de ácido tartárico a 10% p/v (item 3.4.11), previamente esterilizado em autoclave (item 3.3.06) a 121°C durante 15 minutos. A precisão do pH ajustado foi determinada através de medidas em pHmetro (item 3.3.04). Alíquotas de 20 mL do meio foram vertidas em placas de Petri estéreis. Após a solidificação do meio, as placas foram conservadas invertidas em geladeira (item 3.3.11) (APHA, 1992; OXOID, 1995).

3.8. Preparação do diluente

3.8.01. Solução estoque

Para a preparação do diluente, foi necessária a preparação prévia de uma solução estoque. Foram dissolvidos 34 g de fosfato monopotássico (item 3.4.09) em 500 mL de água destilada e o pH foi ajustado a 7,2 com solução de hidróxido de sódio 1N (item 3.4.10), com medidas no pHmetro (item 3.3.04). A solução teve seu volume elevado a 1L com água destilada (SHARF, 1972).

3.8.02. Diluente

Foi transferido 1,25 mL da solução estoque (item 3.8.01) para um balão volumétrico de 1L e o volume foi completado com água destilada. Alíquotas de 9 mL foram transferidas para tubos de ensaio, que foram tampados com rodilhão e

esterilizados em autoclave (item 3.3.06) a 121°C durante 15 min. Os tubos assim preparados foram conservados em geladeira (item 3.3.11) (SHARF, 1972).

3.9. Preparo das diluições para análises microbiológicas

Foi transferida assepticamente, com pipeta volumétrica previamente esterilizada, 1 mL da amostra de suco de laranja previamente identificada e homogeneizada (as latas contendo o suco devem ser agitadas antes da abertura), para um tubo de ensaio com diluente (item 3.8.02). Dessa forma, foi obtida uma diluição 1/10. O tubo foi vigorosamente agitado e, a partir deste, pelo mesmo procedimento, foram preparadas outras quatro diluições. A Figura 3.6 representa esquematicamente as sucessivas diluições (APHA, 1992).

FIGURA 3.6: Representação esquemática das diluições sucessivas das amostras.

3.10. Método de contagem total de bactérias mesofílicas

O método de contagem padrão de bactérias mesofílicas é utilizado como método primário de monitoramento do crescimento microbiano, sendo utilizado o método de semeadura de profundidade neste tipo de determinação (APHA, 1992).

Alíquotas de 1 mL de cada diluição foram depositadas assepticamente no fundo de placas de Petri previamente esterilizadas e identificadas. A seguir, o meio Orange serum agar, preparado conforme o item 3.7.01, fundido e resfriado a 45°C, foi vertido cuidadosamente nas placas contendo as amostras. As placas foram rotacionadas delicadamente, deslizando-as sobre a bancada em movimentos de “8” até completa homogeneização. Após a solidificação do meio, as placas foram incubadas invertidas em estufa bacteriológica (item 3.3.07) a 30°C durante 7 dias (APHA, 1992; OXOID, 1995).

As colônias foram contadas com o auxílio do contador de colônias (item 3.3.12), conforme orientação da APHA (1992).

3.11. Método de contagem de leveduras e bolores

Alíquotas de 0,1 mL de cada diluição foram inoculadas, assepticamente, em duplicata, no meio Potato dextrose agar solidificado, preparado conforme o item 3.7.02. A amostra foi espalhada por toda a superfície usando um bastão de vidro curvo estéril e as placas foram incubadas durante 5 dias, em temperatura ambiente. Utilizando o contador de colônias (item 3.3.12), as placas contendo de 15 a 150 colônias foram consideradas para contagem (APHA, 1992; OXOID, 1995).

3.12. Determinação do pH

O pH foi medido no equipamento descrito no item 3.3.04, com correção de temperatura.

3.13. Determinação de acidez titulável

Expressa em porcentagem de ácido cítrico, a acidez titulável foi determinada através de titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1N (item 3.4.01), conforme metodologia descrita em INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1976).

3.14. Determinação de °Brix

O °Brix foi medido em refratômetro (item 3.3.05), com correção para temperatura (20°C) e acidez. A correção para temperatura foi procedida conforme tabela de correção apresentada em INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1976) e a correção para acidez conforme AOAC (1995).

3.15. Determinação de “ratio”

Foi obtido através de cálculo e corresponde à relação °Brix / Acidez titulável, determinados conforme os itens 3.14 e 3.13, respectivamente.

3.16. Determinação da densidade, com correção de temperatura

A densidade foi determinada através da equação 3.1, conforme CHEN (1983) apud. KIMBALL (1991).

$$D = 0,11983 \left[a + bB + cB^2 + T \left(d + \frac{e}{B} + \frac{f}{B^2} \right) + T^2 \left(\frac{1}{g + hB} \right) \right] \quad (\text{Eq. 3.1})$$

Sendo:

$a = 8,35100$	$e = 7,60258.10^{-3}$
$b = 3,12158.10^{-2}$	$f = -5,24849.10^{-2}$
$c = 1,47241.10^{-4}$	$g = -31481,1$
$d = -7,03313.10^{-4}$	$h = 98,7441$

$B = ^\circ\text{Brix à temperatura } T$

$T = \text{temperatura } (^\circ\text{C})$

$D = \text{densidade à temperatura } T \text{ (g/cm}^3\text{)}$

3.17. Determinação de sólidos totais

Foram determinados conforme descrito em AOAC (1995) e INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1976). Foram pesados, em balança analítica (item 3.3.14), 20 g da amostra em cápsula de níquel de fundo chato com tampa. Em seguida, a fase líquida foi evaporada em banho-maria e a amostra foi aquecida durante 6 horas a 70°C em estufa (item 3.3.09) sob pressão reduzida (não superior a 100 mmHg). A amostra foi retirada da estufa, resfriada em dessecador com cloreto de cálcio anidro (item 3.4.08) até

temperatura ambiente e pesada novamente. A amostra foi retornada à estufa e as operações de pesagem, resfriamento e retorno à estufa foram repetidas a cada 2 horas até que a variação do peso entre duas pesagens consecutivas fosse menor ou igual a 3 mg. O cálculo da porcentagem de sólidos totais foi feito através da equação 3.2.

$$\text{Porcentagem de sólidos totais} = \frac{N.100.D}{P.d} \quad (\text{Eq. 3.2})$$

Sendo: N = massa (g) de resíduo

 P = massa (g) de amostra

 D = densidade da amostra a 20°C

 d = densidade da água a 20°C

3.18. Determinação de sólidos insolúveis em água

Foram determinados conforme descrito em AOAC (1995) e INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1976).

3.18.01. Preparação do papel de filtro

O papel de filtro Whatmann nº4 foi umedecido com água quente, colocado sobre vidro de relógio e aquecido por uma noite em estufa (item 3.3.08) a 100° - 110°C. O

papel foi resfriado por 1 hora em dessecador com cloreto de cálcio anidro (item 3.4.08) e pesado em balança analítica (3.3.14).

3.18.02. Determinação dos sólidos insolúveis em água

Foram pesados 25 g da amostra em balança analítica (item 3.3.14) e transferidos para um béquer de 400 mL. A seguir, esta amostra foi diluída em água quente até cerca de 200 mL, misturada e levada à ebulição durante 15 a 20 min, substituindo a água eventualmente perdida durante a evaporação.

A amostra foi filtrada através do papel de filtro previamente preparado (item 3.18.01) utilizando um kitassato acoplado a um funil de Büchner e a uma bomba de vácuo (item 3.3.10). O papel de filtro com o resíduo foi colocado no mesmo vidro de relógio e aquecido em estufa a 100° - 110°C durante uma noite. O papel de filtro foi resfriado durante 1h em dessecador com cloreto de cálcio (item 3.4.08) e pesado em balança analítica (item 3.3.14). O cálculo da porcentagem de sólidos insolúveis em água foi feito através da equação 3.3.

$$\text{Porcentagem de sólidos insolúveis} = \frac{N.100.D}{P.d} \quad (\text{Eq. 3.3})$$

Sendo: N = massa (g) de resíduo

 P = massa (g) de amostra

 D = densidade da amostra a 20°C

 d = densidade da água a 20°C

3.19. Detecção de íons alumínio

A detecção de íons alumínio foi feita através da técnica de espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma de argônio. As amostras foram excitadas em uma fonte de gás argônio ionizado e sofreram os processos de dessolvatação, atomização, ionização e excitação dos analitos, com emissão de linhas de átomos e de íons, permitindo a identificação dos mesmos.

3.19.1. Calibração do equipamento

A calibração do espectrofotômetro de emissão atômica com fonte de plasma induzido (ICP-AES) (item 3.3.15) foi feita com soluções analíticas de referência de alumínio, com concentrações de 10, 25, 100 e 250 µg/L em solução de ácido nítrico 0,1% v/v (item 3.4.05). Essas soluções foram preparadas a partir de diluição de uma solução estoque contendo 1000 mg/L de Al^{3+} (item 3.4.06). Para as diluições foi utilizada água destilada e deionizada em sistema Nanopure (item 3.4.07).

3.19.2. Filtragem das amostras

As amostras foram filtradas em papel de filtro analítico Whatmann n.º 41, coletadas em frascos de polietileno.

3.19.3. Detecção de íons alumínio

As amostras filtradas (item 3.19.2) foram analisadas em espectrofotômetro de emissão atômica com fonte de plasma induzido (ICP-AES) (item 3.3.15), previamente calibrado (item 3.19.1). Concentrações conhecidas de alumínio foram adicionadas a algumas amostras de suco como teste de adição e recuperação para certificação da metodologia.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 4.1 apresenta os parâmetros temperatura-tempo obtidos no processamento do suco de laranja.

A Tabela 4.2 apresenta o conteúdo de sólidos totais e sólidos insolúveis do suco em cada condição de ensaio analisada (suco não processado, suco processado a 82,5°C e suco processado a 87,5°C), em duplicata.

As Tabelas 4.3, 4.4, 4.5, 4.6 e 4.7 apresentam, em duplicata, os valores de pH, °Brix, acidez titulável e “ratio” do suco de laranja, respectivamente.

As Tabelas 4.8 e 4.9 apresentam os resultados para contagem total de bactérias mesofílicas e contagem de leveduras e bolores, respectivamente.

TABELA 4.1: Parâmetros temperatura-tempo obtidos no processamento do suco de laranja.

Matriz	Data	Temperatura (°C)	Tempo de processo (s)
1	06/10/98	83,3	34,4
		88,4	30,5
2	20/10/98	82,8	44,2
		87,4	44,8
3	02/02/99	81,4	36,0
		86,8	33,4

TABELA 4.2: Conteúdo de sólidos totais (%) e sólidos insolúveis (%) do suco de laranja para cada condição de ensaio.

Condição	Matriz	Sólidos Totais (%)	Sólidos Insolúveis (%)
Não Processado	1	10,9586	0,2309
		(-)	0,3631
	2	9,9359	0,4449
		10,7514	0,5474
	3	10,4820	0,4756
		10,4897	0,4296
Pasteurizado a 82,5°C	1	10,1654	(-)
		10,5765	0,2574
	2	10,0967	0,2682
		10,0728	0,3235
	3	10,5190	0,3320
		10,5252	0,4072
Pasteurizado a 87,5°C	1	10,6286	0,3405
		10,8945	0,2975
	2	10,0703	0,4219
		10,2125	0,2439
	3	10,3986	(-)
		10,3511	0,2369

(-) dados inexistentes; erro experimental.

TABELA 4.3: Valores de pH obtidos para cada condição de ensaio durante o tempo de armazenamento do suco em lata de alumínio.

Condição	Matriz	Dias					
		0*	1	15	29	43	57
Não Processado	1	3,80	3,80	4,10	4,20	4,15	4,15
		3,90	3,90	4,15	4,10	4,35	4,10
	2	4,15	4,15	4,15	4,25	4,10	4,30
		4,15	4,15	4,10	4,35	4,30	4,30
	3	4,25	4,25	4,45	4,50	4,55	4,40
		4,20	4,20	4,40	4,50	4,50	4,35
Pasteurizado a 82,5°C	1	3,80	4,00	4,20	4,15	4,25	4,10
		3,90	3,90	4,20	4,15	4,25	4,10
	2	4,15	3,85	4,40	4,45	4,40	4,40
		4,15	4,15	4,40	4,45	4,40	4,40
	3	4,25	4,20	4,30	4,50	4,60	4,40
		4,20	4,20	4,40	4,50	4,55	4,50
Pasteurizado a 87,5°C	1	3,80	4,20	4,10	4,10	4,20	4,00
		3,90	4,25	4,10	4,10	4,20	4,05
	2	4,15	4,10	4,50	4,55	4,50	4,50
		4,15	4,20	4,45	4,55	4,50	4,50
	3	4,25	4,20	4,40	4,45	4,50	4,50
		4,20	4,20	4,40	4,45	4,50	4,45

* Valores iniciais obtidos para o suco não processado.

TABELA 4.4: Valores de °Brix obtidos para cada condição de ensaio durante o tempo de armazenamento do suco em lata de alumínio.

Condição	Matriz	Dias					
		0*	1	15	29	43	57
Não Processado	1	10,39	10,39	9,98	9,65	10,02	8,72
		10,27	10,27	9,41	9,86	9,57	9,51
	2	9,68	9,68	9,65	10,15	9,69	9,29
		9,79	9,79	9,85	10,05	8,89	9,53
	3	9,45	9,45	9,73	9,83	10,01	9,53
		9,33	9,33	9,83	9,65	10,01	9,54
Pasteurizado a 82,5°C	1	10,39	9,69	9,91	9,85	9,91	9,66
		10,27	9,93	9,95	9,85	9,77	9,62
	2	9,68	9,68	9,54	9,84	9,48	9,44
		9,79	9,68	9,44	9,84	9,08	9,28
	3	9,45	9,69	9,73	9,65	9,75	9,97
		9,33	9,69	9,83	9,65	9,64	9,73
Pasteurizado a 87,5°C	1	10,39	10,17	9,85	9,85	10,05	9,52
		10,27	10,05	9,95	9,85	10,25	9,62
	2	9,68	9,87	9,48	10,03	9,28	9,47
		9,79	9,67	9,71	9,83	9,38	9,55
	3	9,45	9,51	9,93	9,85	9,81	9,73
		9,33	9,59	9,93	9,65	9,81	9,73

* Valores iniciais obtidos para o suco não processado.

TABELA 4.5: Valores de acidez titulável (%) obtidos para cada condição de ensaio durante o tempo de armazenamento do suco em lata de alumínio.

Condição	Matriz	Dias					
		0*	1	15	29	43	57
Não Processado	1	0,68	0,68	0,65	0,57	0,67	0,54
		0,67	0,67	0,61	0,65	0,59	0,60
	2	0,57	0,57	0,59	0,58	0,59	0,61
		0,60	0,60	0,61	0,59	0,59	0,62
	3	0,59	0,59	0,60	0,59	0,59	0,60
		0,58	0,58	0,60	0,63	0,62	0,66
Pasteurizado a 82,5°C	1	0,68	0,61	0,60	0,61	0,61	0,63
		0,67	0,60	0,61	0,60	0,62	0,62
	2	0,57	0,55	0,53	0,54	0,52	0,55
		0,60	0,55	0,53	0,55	0,53	0,55
	3	0,59	0,60	0,60	0,61	0,59	0,62
		0,58	0,61	0,60	0,61	0,58	0,61
Pasteurizado a 87,5°C	1	0,68	0,60	0,60	0,61	0,61	0,62
		0,67	0,60	0,60	0,60	0,60	0,62
	2	0,57	0,52	0,52	0,50	0,51	0,51
		0,60	0,52	0,51	0,50	0,51	0,51
	3	0,59	0,61	0,62	0,62	0,62	0,60
		0,58	0,62	0,62	0,62	0,61	0,59

* Valores iniciais obtidos para o suco não processado.

TABELA 4.6: Valores de “ratio” (relação °Brix/acidez titulável) obtidos para cada condição de ensaio durante o tempo de armazenamento do suco em lata de alumínio.

Condição	Matriz	Dias					
		0*	1	15	29	43	57
Não Processado	1	15,19	15,19	15,40	17,00	15,03	16,09
		15,26	15,26	15,45	15,15	16,11	15,94
	2	16,23	16,23	16,26	17,34	16,40	15,25
		17,08	17,08	16,41	17,09	14,97	15,42
	3	16,25	16,25	16,14	15,24	16,95	15,81
		15,80	15,80	16,47	16,64	16,19	14,55
Pasteurizado a 82,5°C	1	15,19	15,99	16,43	16,18	15,35	15,32
		15,26	16,47	16,34	16,34	16,81	15,56
	2	16,23	17,66	18,00	18,14	17,99	17,22
		17,08	17,55	17,80	17,85	17,33	16,84
	3	16,25	16,08	16,22	15,92	16,64	16,29
		15,80	15,91	16,39	15,92	16,59	15,82
Pasteurizado a 87,5°C	1	15,19	17,03	16,41	16,26	16,50	15,32
		15,26	16,67	16,58	16,42	16,99	15,56
	2	16,23	19,05	18,20	19,96	18,13	18,62
		17,08	18,65	18,99	19,56	18,22	18,67
	3	16,25	15,46	16,06	15,86	15,91	16,22
		15,80	15,75	16,14	15,69	16,03	16,39

* Valores iniciais obtidos para o suco não processado.

TABELA 4.7: Conteúdo de íons alumínio ($\mu\text{g/L}$) detectado para cada condição de ensaio durante o tempo de armazenamento do suco em lata de alumínio.

Condição	Matriz	Dias					
		0	1	15	29	43	57
Não Processado	1	30,00	21,30	30,60	20,00	27,80	86,30
		33,00	32,20	29,10	25,60	49,50	73,00
	2	109,00	114,00	123,00	40,70	45,70	71,30
		103,00	86,20	58,50	77,80	66,20	56,40
Pasteurizado a 82,5°C	1	74,30	78,40	53,90	53,70	75,10	80,90
		30,00	46,60	63,00	47,40	68,20	45,70
	2	99,40	66,50	19,60	28,80	61,00	88,90
		99,10	28,60	17,40	38,10	79,00	126,00
Pasteurizado a 87,5°C	1	47,20	42,90	83,50	38,20	46,30	48,70
		51,80	48,20	36,40	83,30	49,40	63,70
	2	91,80	78,10	32,00	19,30	73,30	36,40
		93,10	14,70	123,00	111,00	58,90	59,80

TABELA 4.8: Contagem total de bactérias mesofílicas (UFC/mL) para cada condição de ensaio durante o tempo de armazenamento do suco em lata de alumínio.

Condição	Matriz	Dias					
		0*	1	15	29	43	57
Não Processado	1	5,30E+06	5,30E+06	(-)	3,70E+05	5,20E+05	(-)
		2,90E+06	2,90E+06	(-)	1,80E+06	3,90E+07	4,00E+04
	2	(-)	(-)	8,30E+05	1,50E+07	(-)	1,00E+06
		(-)	(-)	4,70E+06	6,20E+07	2,00E+06	1,40E+06
	3	3,00E+04	3,00E+04	2,10E+05	3,60E+05	8,00E+05	1,00E+04
		2,00E+03	2,00E+03	4,50E+04	(-)	7,00E+04	3,00E+05
Pasteurizado a 82,5°C	1	5,30E+06	2,00E+05	(-)	1,50E+07	1,90E+07	(-)
		2,90E+06	5,80E+04	(-)	8,00E+06	5,90E+06	(-)
	2	(-)	(-)	3,40E+05	1,10E+05	8,60E+04	2,00E+01
		(-)	(-)	8,00E+06	(-)	5,20E+04	1,10E+02
	3	3,00E+04	1,00E+02	2,40E+07	1,10E+07	(-)	1,50E+04
		2,00E+03	2,00E+02	3,40E+06	3,00E+07	(-)	6,00E+04
Pasteurizado a 87,5°C	1	5,30E+06	1,40E+04	(-)	4,20E+03	2,30E+05	3,90E+03
		2,90E+06	1,50E+04	(-)	1,70E+06	3,30E+06	2,40E+05
	2	(-)	(-)	7,00E+05	2,30E+04	5,40E+05	2,20E+03
		(-)	(-)	2,20E+06	1,30E+03	3,00E+05	(-)
	3	3,00E+04	1,00E+03	4,30E+06	1,90E+05	3,50E+05	(-)
		2,00E+03	1,00E+03	1,10E+05	4,00E+06	2,40E+05	(-)

(-) dados inexistentes; erro experimental.

* Valores iniciais obtidos para o suco não processado.

TABELA 4.9: Contagem de leveduras e bolores (UFC/mL) para cada condição de ensaio durante o tempo de armazenamento do suco em lata de alumínio.

Condição	Matriz	Dias					
		0*	1	15	29	43	57
Não Processado	1	1,90E+05	1,90E+05	2,00E+03	1,40E+03	6,50E+03	10
		1,70E+05	1,70E+05	5,50E+02	8,40E+04	4,00E+02	50
	2	4,90E+02	4,90E+02	1,60E+05	40	90	<10
		2,70E+03	2,70E+03	1,60E+03	1,40E+02	1,10E+02	<10
	3	2,50E+02	2,50E+02	2,00E+03	1,50E+04	1,20E+04	3,50E+03
		2,90E+02	2,90E+02	4,90E+02	8,60E+03	1,60E+04	9,40E+05
Pasteurizado a 82,5°C	1	1,90E+05	75	20	20	50	10
		1,70E+05	60	20	30	<10	20
	2	4,90E+02	1,50E+02	40	50	20	<10
		2,70E+03	5,30E+02	2,10E+02	3,50E+02	10	20
	3	2,50E+02	95	25	40	30	10
		2,90E+02	65	35	<10	3,80E+02	<10
Pasteurizado a 87,5°C	1	1,90E+05	1,40E+02	10	20	20	30
		1,70E+05	1,60E+02	20	<10	10	10
	2	4,90E+02	<10	10	40	40	<10
		2,70E+03	60	40	9,90E+02	20	<10
	3	2,50E+02	98	35	30	10	10
		2,90E+02	25	70	10	40	10

* Valores iniciais obtidos para o suco não processado.

A partir dos valores médios de temperatura-tempo de processo apresentados na Tabela 4.1, foram consideradas para efeito comparativo as seguintes condições: 82,5°C - 35 s, 82,5°C - 45 s, 87,5°C - 35 s e 87,5°C - 45 s.

Os dados apresentados na Tabela 4.2 indicam que houve pequenas variações no conteúdo de sólidos totais e de sólidos insolúveis das amostras analisadas, denotando que as amostras foram homogêneas. Os valores médios foram $(10,4193 \pm 0,2976)\%$ para os sólidos totais e $(0,3513 \pm 0,0952)\%$ para os sólidos insolúveis.

A análise de variância “two-way” indicou que o tempo de processo e o tempo de armazenamento influenciaram estatisticamente, ao nível de significância de 1%, o pH do suco, que apresentou a grande média $4,33 \pm 0,18$, com ligeiro aumento no seu valor com o aumento do tempo de armazenamento (Tabela 4.3).

A análise de variância “two-way” denotou uma forte influência do tempo de processo sobre o °Brix e a acidez titulável medidos no suco, ao nível de significância de 1%, apresentando as grandes médias $(9,69 \pm 0,22)$ °Brix e $(0,57 \pm 0,04)\%$, respectivamente, para o °Brix e para a acidez titulável expressa como ácido cítrico (Tabelas 4.4 e 4.5).

Apesar da indicação de diferenças estatisticamente significativas, essas variações ocorrem freqüentemente e são esperadas, uma vez que o suco de laranja é um sistema complexo que consiste de uma mistura aquosa de vários componentes orgânicos; pH, °Brix e acidez titulável dependem do tipo e da concentração de ácido na fruta, da sua espécie, do seu grau de maturação, entre outros fatores.

A análise de variância “two-way” também indicou uma forte influência do tempo de processo sobre o “ratio”, ao nível de significância de 1%, como era esperado, uma vez que os valores de “ratio” foram calculados através da relação °Brix/acidez

titulável, apresentando a grande média $17,19 \pm 1,16$ (Tabela 4.6). Este parâmetro é utilizado pela indústria de sucos para relacionar a doçura do suco. Dessa forma, o “ratio” é usado para padronizar o suco para o processamento. Através do “blending” de culturas com diferentes valores de “ratio”, é possível minimizar as diferenças de °Brix e acidez que ocorrem devido às diferentes variedades de laranja. No Brasil, “ratio” 14 é o valor adotado pelas indústrias de suco.

A análise de variância “two-way” indicou que não houve diferença significativa entre os valores do conteúdo de íons alumínio apresentados na Tabela 4.7, com a grande média $57,85 \mu\text{g/L}$ ($31,00 \mu\text{g/L} - 84,70 \mu\text{g/L}$). Apesar da grande variação nos valores obtidos, o valor máximo de conteúdo de íons alumínio está aquém do limite tolerado de ingestão semanal de alumínio (Provisional Tolerable Weekly Intake – PTWI) estabelecido pela FAO/WHO, que para um indivíduo adulto com 60 kg é de 420 mg por semana, ou seja, 60 mg de alumínio por dia. Dessa forma, supondo que uma pessoa consuma somente suco de laranja em um dia, ela teria que beber mais de 500L de suco de laranja por dia para ultrapassar tal limite (JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES (1989) apud. LIUKKONEN-LILJA & PIEPPONEN (1992)).

Os valores iniciais de conteúdo de íons alumínio no suco de laranja (dia 0) apresentados na Tabela 4.7 indicam que para cada matriz, ou seja, para cada lote de matéria-prima, os valores encontrados foram próximos, indicando a reprodutibilidade dos resultados. Durante o tempo de armazenamento estudado (57 dias), foi verificado que não houve aumento no conteúdo de íons alumínio em relação aos valores iniciais para cada condição.

As Figuras 4.1 e 4.2 a seguir apresentam os valores da contagem total de bactérias mesofílicas em relação à contagem inicial (N/N_0) em função do tempo de armazenamento do suco em latas de alumínio sob temperatura de refrigeração. Para os resultados correspondentes à matriz 2, o valor de N_0 utilizado foi obtido através de extrapolação gráfica. Observando as linhas de tendência em ambas as figuras, para as condições de processo $82,5^\circ\text{C} - 45\text{ s}$ e $87,5^\circ\text{C} - 45\text{ s}$, o número de microorganismos sobreviventes diminuiu com o tempo de armazenamento. Para as condições $82,5^\circ\text{C} - 35\text{ s}$ e $87,5^\circ\text{C} - 35\text{ s}$, houve aumento do número de sobreviventes a partir do 23º dia e 33º dia, respectivamente, em relação ao suco não-processado.

SADLER et al. (1992) apresentaram estudos de mudanças químicas, enzimáticas e microbiológicas em suco de laranja processado e fresco. Tratamento térmico conduzido a 66°C por 10 segundos, denominado pasteurização branda, e tratamento térmico conduzido a 90°C por 60 segundos, denominado pasteurização severa, foram igualmente efetivos na redução da carga microbiana, apresentando valores da ordem de 10^5 UFC/mL de suco após 50 dias de armazenamento a 4°C , valores comparáveis aos obtidos neste estudo.

FELLERS (1988) estudou a qualidade e a vida de prateleira de suco de laranja não processado, das espécies Valencia e Hamlin originárias da Flórida, EUA, acondicionado em garrafas de polietileno. Após 3 semanas de armazenamento a $4,4^\circ\text{C}$, foram encontrados valores de contagem total de bactérias mesofílicas da ordem de $1,3 \cdot 10^4$ UFC/mL de suco e valores de leveduras e bolores da ordem de $1,0 \cdot 10^5$ UFC/mL de suco. Em seu estudo, o autor sugeriu, para o suco de laranja não processado acondicionado em garrafas de polietileno, uma vida de prateleira de 2 semanas a $4,4^\circ\text{C}$, com retenção de ácido ascórbico satisfatória, na ordem de 86 a 93%.

FIGURA 4.1: Contagem total de bactérias mesofílicas em relação à contagem inicial (N/N_0) para a temperatura de processo 82,5°C em função do tempo de armazenamento do suco acondicionado em latas de alumínio em temperatura refrigerada.

FIGURA 4.2: Contagem total de bactérias mesofílicas em relação à contagem inicial (N/N_0) para a temperatura de processo 87,5°C em função do tempo de armazenamento do suco acondicionado em latas de alumínio em temperatura refrigerada.

A Figura 4.3 indica a influência da temperatura de processo (não processado considerado a 25°C, processado a 82,5°C e processado a 87,5°C) sobre o número de sobreviventes após 1 dia de processo, mostrando um forte decréscimo conforme há o aumento da temperatura, indicando a eficiência do processo de pasteurização.

FIGURA 4.3: Contagem total de bactérias mesofílicas em relação à contagem inicial (N/N_0) após 1 dia de processo para o tempo de processo 35 s em função da temperatura de processo.

A Figura 4.4 ilustra a eficiência do processo de pasteurização também sobre a contagem de leveduras e bolores no suco após 1 dia de processamento. De acordo com a Legislação Brasileira, o limite máximo de leveduras e bolores tolerado para suco “in natura” é de 10^4 UFC/mL. As condições de processo empregadas neste trabalho indicaram valores inferiores a este limite no período de armazenamento testado (57 dias), como pode ser observado na Tabela 4.9 (BRASIL, 1987).

FIGURA 4.4: Contagem de leveduras e bolores em relação à contagem inicial (N/N_0) após 1 dia de processo para os tempos de processo 35 s e 45 s em função da temperatura de processo.

5. CONCLUSÕES

As análises de variância indicaram que as condições de processo (82,5°C - 35 s, 82,5°C - 45 s, 87,5°C - 35 s e 87,5°C - 45 s) não influenciaram as características físico-químicas do suco (pH, °Brix, acidez titulável, “ratio”).

Embora os valores de conteúdo de íons alumínio no suco tenham apresentado grande variação, os valores encontrados foram muito baixos, se for considerado o limite tolerado de ingestão semanal de alumínio (Provisional Tolerable Weekly Intake – PTWI) estabelecido pela FAO/WHO de 7 mg por quilograma de massa corpórea, o que corresponde a um indivíduo adulto ter que beber mais de 500L de suco de laranja por dia para ultrapassar tal limite (GRAMICCIONI et al., 1996).

Durante o período de armazenamento testado (57 dias), foi verificado que não houve aumento do conteúdo de íons alumínio no suco de laranja, denotando a viabilidade do uso da lata de alumínio como alternativa de embalagem para suco de laranja.

Não há dados de limite para contagem total de bactérias mesofílicas em suco na Legislação Brasileira e há divergência de opiniões sobre qual seria este limite. Industrialmente, de acordo com a literatura americana, o nível máximo de microorganismos aceito varia de 500 a 100.000 UFC em 1 mL de suco.

As condições de processo empregadas neste trabalho indicaram, no período de armazenamento testado (57 dias), valores para contagem de leveduras e bolores inferiores ao limite estabelecido pela Legislação Brasileira.

Portanto, o suco processado neste trabalho, armazenado em latas de alumínio e mantido a temperatura de refrigeração, indica a viabilidade do produto como uma

alternativa do “produto pronto para beber”, sem adição de açúcar e/ou qualquer outro produto químico. O suco de laranja armazenado em lata de alumínio refrigerado submetido a tratamento térmico brando faz com que suas características de qualidade sejam mais próximas das do “produto fresco”, expectativa de que o consumidor brasileiro já compartilha nos dias de hoje. Dando continuidade a este projeto, estudos mais detalhados, incluindo testes sensoriais, devem ser conduzidos para definir a vida de prateleira do produto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3.ed. Washington, D.C., 1992, 1219p.
- ANJOS, V.D.A. Latas de alumínio: aspectos da reciclagem. **Boletim do Centro de Tecnologia de Embalagem de Alimentos do ITAL**, n.5, v.7, p. 6-9, set./out. 1995.
- A.P.V. DO BRASIL S.A. Seminário Paraflow. s.d., 30p., São Paulo.
- ARRUDA, A.Z.; GALLEGOM.; VALCÁRCEL, M. Determination of aluminium in slurry and liquid phase of juices by flow injection analysis graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Anal.Chem.** v. 65, p. 3331-5, 1993.
- ARRUDA, W.R.; CARDONHA, A.M.S. Avaliação microbiológica de sucos de laranja “in natura” comercializados na cidade do Natal –RN. Anais do XVI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Rio de Janeiro, 1998. CD-ROM, Trabalho n.º 558.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **AOAC Official Methods of Analysis**. 16^{ed}. Vol.II. Washington, D.C., 1995.
- BRASIL. Fund. Inst. Bras. de Geografia e Estatística - IBGE - **Anuário estatístico do Brasil**. 1994.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº01 – DINAL/MS de 28 de janeiro de 1987. Diário Oficial da União, de 28 de janeiro de 1987, Brasília, DF.
- DABEKA, R. W.; MCKENZIE, A.D. Aluminium levels in Canadian infant formulae and estimation of aluminium intakes from formulae by infants 0-3 months old. **Food additives and contaminants**, n.2, v. 7, p. 275-82, 1990.

- DANTAS, S. T. A utilização do alumínio como material de embalagem metálica para alimentos e bebidas. **Bol. ITAL**, Campinas, v. 22, n.1, p. 1-18, jan./mar. 1985.
- EAGERMAN, B.A.; ROUSE, A.H. Heating inactivation temperature-time relationships for pectinesterase inactivation in citrus juice. **Journal of Food Science.**, n. 41, p. 1396-7, 1976.
- FAO. FAOSTAT statistics database. apps.fao.org. abr. 1999.
- FELLERS, J.P. Shelf life and quality of freshly squeezed, unpasteurized, polyethylene-bottled citrus juice. **Journal of food science.**, v..53, n..6, p.1699-702, 1988.
- FURLANETTO, S.M.P.; PAULA, C.R.; GAMBALE, W. Ocorrência de bolores e leveduras em sucos de laranja ao natural. **Rev. Microbiol.** São Paulo. v.1, n.13, p. 31-4, jan./mar. 1982.
- GRAMICCIONI, L. et al. Aluminium levels in Italian diets and in selected foods from aluminium utensils. **Food additives and contaminants**, n. 7, v. 13, p. 767-74, 1996.
- IHA, M.H. et al. Avaliação físico-química e higiênico-sanitária do suco de laranja não pasteurizado, engarrafado e comercializado nas cidades de Ribeirão Preto e Araraquara – SP. Anais do XVI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Rio de Janeiro, 1998. CD-ROM, Trabalho n.º 292.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do IAL - Métodos químicos e físicos para análise de alimentos.**, 2 ed., Vol.1, São Paulo, 1976, 371p.
- KIM, H.B.; TADINI, C.C.; SINGH, R.K. Effect of different pasteurization conditions on enzyme inactivation of orange juice in pilot-scale experiments. **Journal of food process engineering. In Press.** 1998.

- KIMBALL, D.A. **Citrus processing quality control and technology**. N.Y.; Chapman & Hall – ITP, 473p, 1991.
- LATASA. A lata de alumínio. www.latasa.com.br. abr. 1999a.
- LATASA. Quem somos. www.latasa.com.br. abr. 1999b.
- LATASA. O que é reciclagem. www.latasa.com.br. abr. 1999c.
- LIUKKONEN-LILJA, H.; PIEPPONEN, S. Leaching of aluminium from aluminium dishes and packages. **Food additives and contaminants**, n.3, v. 9, p. 213-23, 1992.
- MORGON, C. Reciclagem de embalagens cartonadas para bebidas. **Boletim do Centro de Tecnologia de Embalagem de Alimentos do ITAL**, n. 1, v.6, p. 2-3, jan./fev. 1994.
- NASCIMENTO, D.; FURLANETTO, S.M.P. Determinação quantitativa de grupos de bactérias em sucos de laranja ao natural. **Rev. Saúde Públ.**, São Paulo, n.15, p. 221-35, 1981.
- NICKDEL, S. et al. Pasteurization of citrus juice with microwave energy in continuous-flow unit. **J. Agric. Food Chem.**, n.41, p. 2116-9, 1993.
- OXOID. **Manual Oxoid**. England, UNIPATH Limited, 1995.
- PENNINGTON, J.A.T. Aluminum content of foods and diets. **Food additives and contaminants**, n.2, v.5, p. 161-232, 1987.
- PENNINGTON, J.A.T.; SCHOEN, S.A. Estimates of dietary exposure to aluminium. **Food additives and contaminants**, n.1, v.12, p. 119-28, 1995.
- SADLER, G.D.; PARISH, M.E.; WICKER, L. Microbial, enzymatic and chemical changes during storage of fresh and processed orange juice. **Journal of food science**, n.5, v.57, p. 1187-91, 1992.

- SCHOLZ, C. Explode consumo de descartáveis. **O Estado de São Paulo**, São Paulo, 10 de novembro de 1996. Economia, p.B19.
- SHARF, J.M. **Métodos recomendados para o exame microbiológico de alimentos**. 2. ed. Ed. Polígono, 257p, 1972.
- SOLER, R.M. Embalagens metálicas. **Boletim do Centro de Tecnologia de Embalagem de Alimentos do ITAL**, n.5, v.1, p. 2-3, set./out. 1989.
- STANIER, R.Y.; DOUDOROFF, M.; ADELBERG, E.A. **Mundo dos micróbios**. São Paulo. Editora Edgard Blücher Ltda, 741p., 1969.
- TADINI, C.C.; AOKI, I.V.; MELO, H.G.; SHIGEOKA, D.S. Comportamento da liga de alumínio 3004-H39, através de técnica gravimétrica, em suco de laranja natural e solução simulada. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n.16, v.3, p223-7, out-dez 1996.
- TOCCHINI, R.P.; NISIDA, A.L.A.C.; BERBARI, S.A.G. Estabilidade do suco de laranja refrigerado, em condições definidas de distribuição e comercialização. **Bol. SBCTA**, n. 27, v.2, p. 128-32, jul./dez. 1993.