UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

NATALI KNORR VALADÃO

Aproveitamento de soro de ricota para elaboração de suplemento hidroeletrolítico

Pirassununga
2015

NATALI KNORR VALADÃO

Aproveitamento de soro de ricota para elaboração de suplemento hidroeletrolítico

"Versão corrigida"

Tese de doutorado apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Petrus

Pirassununga

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
da Universidade de São Paulo

Valadão, Natali Knorr
V136a Aproveitamento de soro de ricota para elaboração de suplemento hidroeletrolítico / Natali Knorr Valadão. –- Pirassununga, 2015.
161 f.
Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo.
Departamento de Engenharia de Alimentos.
Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Petrus.

1. Isotônico 2. Desenvolvimento de produto 3. Processamento 4. Envase asséptico 5. Estabilidade. I. Título.

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – o autor”

Dedico à minha família e aos
meus queridos amigos pelo total apoio.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida maravilhosa que tem me proporcionado.

Ao Departamento de Engenharia de Alimentos da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Petrus pela orientação, ideias compartilhadas, companheirismo, paciência, dedicação em ensinar e experiência acadêmica transmitida.

À empresa PLZ Tecnologia pelas análises de osmolalidade.

À empresa Duas Rodas e ao Grupo MCassab pela doação do aroma e do corante para o desenvolvimento da formulação.

À empresa Granolab do Brasil pela doação da enzima Granolact M 7500.

Às empresas Sandet® e Thech Desinfecção® pela doação dos detergentes e sanificante.

À Prefeitura do *Campus* da USP de Pirassununga pela doação do soro de leite e por permitir a utilização do Laticínio Escola para produção de ricota.

Aos funcionários do laticínio Sr Osvaldo, Silvia, Aline e Marina pelo auxílio na fabricação da ricota.

À Profa. Dra. Eliana Setsuko Kamimura pela disponibilização do Laboratório de Bioprocessos para as análises microbiológicas.

À Profa. Dra. Maria Tereza de Alvarenga Freire pelo compartilhamento de equipamentos no Laboratório de Tecnologia de Sistemas de Embalagem.

Ao Prof. Gelson pelo auxílio no desenvolvimento da formulação isotônica.

Aos meus estagiários Talyta, Jacqueline, Silmara, Guilherme e Ana pela dedicação durante o desenvolvimento do projeto.

À Ivana e ao Fabinho pela fantástica colaboração, companheirismo, ideias compartilhadas e auxílio nos processamentos e nas análises.

À Bruna Carolina Lourenço pelos contatos fornecidos para doações de insumos para o desenvolvimento da pesquisa.

Aos meus amigos de pós-graduação pela ajuda em todos os momentos e por fazerem parte de um momento tão importante.

À minha família e amigos por sempre apoiarem as minhas escolhas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

A todos, que embora não comentados individualmente, me apoiaram e contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

“Valeu a pena? Tudo vale a pena
se a alma não é pequena”
Fernando Pessoa

RESUMO

VALADÃO, N.K. Aproveitamento de soro de ricota para elaboração de suplemento hidroeletrolítico. 2015. 161p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

O presente estudo consistiu na formulação, no processamento em escala piloto, na avaliação da esterilidade comercial (EC) e no estudo da vida útil de um suplemento hidroeletrolítico (isotônico) elaborado com soro de ricota. O soro de ricota deslactosado foi pasteurizado a 75 °C/15 s, acondicionado assepticamente em garrafas plásticas e estocado a 0 °C para ser utilizado no desenvolvimento da formulação do isotônico. O desenvolvimento da formulação contendo soro de ricota, água deionizada, corante, aroma, sacarose e cloreto de sódio foi norteado pela aplicação de testes sensoriais de Ordenação-Preferência, de Escala do Ideal e testes físico-químicos. Utilizando-se um delineamento experimental fatorial, investigou-se o binômio tempo de retenção (30 a 50 s) x temperatura de pasteurização (85 a 95 °C) adequado à obtenção de uma bebida comercialmente esterilizada com elevada aceitação sensorial. A estabilização da bebida foi baseada na seguinte combinação de métodos térmicos e não térmicos: acidificação, pasteurização e envase asséptico. Testes físico-químicos, sensoriais e microbiológicos, incluindo o teste de EC, foram realizados na bebida recém-processada (tempo zero do estudo da vida útil (VU)). Um terço, aproximadamente, de cada lote processado foi estocado a -18 °C (amostras controle) e dois terços estocados a 25 °C (amostras codificadas), na ausência de luz. A estimativa da VU da bebida foi fundamentada em testes microbiológicos e sensoriais. A avaliação da estabilidade microbiológica baseou-se na enumeração de bactérias aeróbias mesófilas e a estabilidade sensorial em testes de Escala Hedônica de nove pontos para avaliação da impressão global do produto. A formulação isotônica desenvolvida atendeu aos requisitos estabelecidos pela Legislação Alimentar Brasileira, com pH 3,15, teor de sólidos solúveis de 6,4 °Brix, osmolalidade de 306 mOsm/kg água e níveis de sódio e de potássio equivalentes a 500 e 650 mg/L, respectivamente. A bebida recém-processada apresentou contagens de bactérias mesófilas aeróbias inferiores a 10^1 UFC/mL e as médias das notas obtidas nos testes de Escala Hedônica de nove pontos alcançaram 6 (gostei ligeiramente) para o aroma e para o sabor, e situaram-se entre 6 (gostei ligeiramente) e 7 (gostei moderadamente) para a aparência. A análise estatística dos resultados revelou que somente o tempo de retenção aplicado no tratamento térmico produziu efeito significativo ($p < 0,05$) no sabor da bebida recém-processada, não apresentando efeitos significativos para

aroma, aparência, parâmetros de cor (*L**, *a** e *b**), pH, acidez titulável e teor de sólidos solúveis. Somente os processamentos 3 (95 °C/50 s), 4 (90 °C/40 s) e 5 (85 °C/30 s) alcançaram a EC e tiveram seus tempos de VU limitados pela depreciação sensorial, estimados em 100, 128 e 153 dias, respectivamente. Os tempos de VU estimados para os lotes dos processamentos 2 (95 °C/30 s), 6 (85 °C/50 s) e 7 (90 °C/40 s) foram equivalentes a 70, 42 e 42 dias, respectivamente, tendo sido limitado pelo desenvolvimento de micro-organismos, resultando em alterações na aparência da bebida e no estufamento de algumas embalagens. O lote 1 (90 °C/40 s) teve sua vida útil estimada em 128 dias devido a falta de amostras. O soro de ricota revelou-se uma alternativa tecnologicamente viável para elaboração de um suplemento hidroeletrolítico permitindo o aproveitamento e a agregação de valor ao referido subproduto. A combinação dos métodos empregados na estabilização da bebida foi eficiente para a redução da carga microbiana inicial e para a obtenção de uma bebida com boa aceitação sensorial.

Palavras chave: Isotônico, desenvolvimento de produto, processamento, envase asséptico, estabilidade.

Abstract

VALADÃO, N.K. The use of ricotta cheese whey in the formulation of a hydroelectrolytic supplement. 2015. 161p. Doctoral Thesis – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, 2015.

This study focused the formulation, small scale processing, commercial sterility (CS) evaluation and shelf life (SL) study of a ricotta cheese whey (RCW) based sports drink (isotonic). The RCW was pre-treated with lactase, pasteurized at 75 °C/15 s, asepticaly filled into plastic bottles and stored at 0 °C. Then it was used to develop the isotonic formulation (RCW, deionized water, coloring, flavor, sucrose and sodium chloride) by applying Rank Preference, Just Right Scale and physicochemical tests. A factorial experiment was designed to investigate the binomial holding time (30 to 50 s) and pasteurization temperature (85 to 95 °C) appropriate for attaining a commercially sterilized drink with a high sensory acceptance. The drink stabilization was based on the combination of thermal and non-thermal methods: acidification, pasteurization and aseptic filling. Physicochemical, sensory and microbiological tests were performed in the freshly processed drink. Approximately one third of each processed batch was stored at -18 ° C (control samples) and two thirds stored at 25 °C (coded samples), in the dark. The estimate of the isotonic shelf life relied on the microbiological and sensory tests. The microbiological stability evaluation was based on the total mesophilic aerobic counts. The sensory stability study relied on a nine-point Hedonic Scale tests. The developed formulation met the Brazilian Food Legislation and obtained acceptance average scores of 6.3, pH 3.15, soluble solids of 6.4 °Brix, osmolality of 306 mOsm/kg água, 500 mg/L of sodium and 650 mg/L of potassium. The freshly processed product presented mesophilic aerobic bacteria counts below 10^1 CFU/mL. The average of the ratings obtained for aroma and flavor in the nine-point Hedonic Scale tests reached 6 (liked slightly); it ranged from 6 (liked slightly) to 7 (liked moderately) for appearance. The statistical analysis showed that only the holding time applied to the heat treatment had significant effect ($p < 0.05$) in the flavor of the drink. Neither the holding time nor the pasteurization temperature affected other sensory attributes and physicochemical parameters. Only batches 3 (95 °C/50 s), 4 (90 °C/40s) and 5 (85 °C /30 s) reached the commercial sterility; their shelf lives were limited by sensory depreciation and estimated at 100, 128 and 153 days, respectively. The shelf lives for batches 2 (95 °C/30 s), 6 (85 °C/50 s) and 7 (90 °C/40 s) were 70, 42 and 42 days, respectively; they were limited by the microbial growth.. The findings indicate that RCW could be a technologically feasible alternative to produce a sports drink. The

combination of methods employed in this study was effective in reducing the initial microbial load and obtained a drink with good acceptance.

Keywords: isotonic drink; new product development; processing; aseptic filling; stability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Sistemas de envase para bebidas isotônicas. 32

Figura 1.2: Estágios para o desenvolvimento de novos produtos. 38

Figura 2.1: Imagens do processo de obtenção do soro de ricota. (A) soro de queijo minas frescal; (B) soro de queijo adicionado de ácido lático (85 °C); (C) soroproteínas desnaturadas (ricota); (D) soro de ricota. 54

Figura 2.2: Fluxograma de processamento do soro da ricota destinado ao desenvolvimento da formulação isotônica. 55

Figura 2.3: Frequência de notas do teste de escala Hedônica de 9 pontos para a formulação 10. 62

Figura 2.4: Respostas obtidas no teste de Escala do Ideal para “cor laranja”. 63

Figura 2.5: Respostas obtidas no teste de Escala do Ideal para “odor de tangerina”. . 64

Figura 2.6: Respostas obtidas no teste de Escala do Ideal para “sabor de tangerina”. 64

Figura 2.7: Respostas obtidas no teste de Escala do Ideal para “acidez”. 64

Figura 2.8: Respostas obtidas no teste de Escala do Ideal para “gosto doce”. 65

Figura 2.9: Respostas obtidas no teste de Escala do Ideal para “gosto salgado”. 65

Figura 3.1: Fluxograma de produção experimental de bebida isotônica elaborada com soro de ricota. 79

Figura 3.2: Tanque de recepção de matéria-prima (A), trocador de calor a placas (B) e seção de retenção (C). 80

Figura 3.3: Vista parcial da planta piloto.. 81

Figura 3.4: Dosagem gravimétrica. 81

Figura 3.5: Fechamento da embalagem. 82

Figura 3.6: Seladora de indução. 82

Figura 3.7: Selagem por indução. 82

Figura 3.8: Bebida isotônica desenvolvida a partir do soro de ricota resultante do processamento 1. 88

Figura 3.9: Espaço de cor do sistema CIEL*a*b*. 89

Figura 3.10: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) nos parâmetros físico-químicos. 92

Figura 3.11: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) na aceitação sensorial da bebida. 95

Figura 3.12: Superfície de resposta para aceitação do sabor em função da temperatura de pasteurização e do tempo de retenção empregados no processamento do isotônico. 97

Figura 3.13: Curva de contorno para aceitação do sabor em função da temperatura de pasteurização e do tempo de retenção empregados no processamento do isotônico. 97

Figura 4.1: Amostras da bebida isotônica incubadas em câmara BOD a 25 °C. 106

Figura 4.2: Variação das médias dos teores de sólidos solúveis para as amostras dos processamentos (P) 1, 2, 6 e 7. 119

Figura 4.3: Variação das médias de sólidos solúveis para as amostras dos processamentos (P) 3, 4 e 5. 119

Figura 4.4: Variação das médias de pH para as amostras dos processamentos (P) 1, 2, 6 e 7..... 120

Figura 4.5: Variação das médias de pH para as amostras dos processamentos (P) 3, 4 e 5. 120

Figura 4.6: Variação das médias de acidez titulável para as amostras dos processamentos (P) 1, 2, 6 e 7. 120

Figura 4.7: Variação das médias de acidez titulável para as amostras dos processamentos (P) 3, 4 e 5. 121

Figura 4.8: Variação das médias dos parâmetros de cor (*L* a* b**) da bebida isotônica do processamento 1. 126

Figura 4.9: Variação das médias dos parâmetros de cor (*L* a* b**) da bebida isotônica do processamento 2. 126

Figura 4.10: Variação das médias dos parâmetros de cor (*L* a* b**) da bebida isotônica do processamento 3. 127

Figura 4.11: Variação das médias dos parâmetros de cor (*L* a* b**) da bebida isotônica do processamento 4. 127

Figura 4.12: Variação das médias dos parâmetros de cor (*L* a* b**) da bebida isotônica do processamento 5. 127

Figura 4.13: Variação das médias dos parâmetros de cor (*L* a* b**) da bebida isotônica do processamento 6. 128

Figura 4.14: Variação das médias dos parâmetros de cor (*L* a* b**) da bebida isotônica do processamento 7. 128

Figura 4.15: Evolução das médias das notas para sabor da bebida isotônica estocada a 25 °C (codificada) e a -18 °C (controle) do processamento (P) 1. 132

Figura 4.16: Evolução das médias das notas para sabor da bebida isotônica estocada a 25 °C (codificada) e a -18 °C (controle) do processamento (P) 2. 132

Figura 4.17: Evolução das médias das notas para sabor da bebida isotônica estocada a 25 °C (codificada) e a -18 °C (controle) do processamento (P) 3. 132

Figura 4.18: Evolução das médias das notas para sabor da bebida isotônica estocada a 25 °C (codificada) e a -18 °C (controle) do processamento (P) 4. 133

Figura 4.19: Evolução das médias das notas para sabor da bebida isotônica estocada a 25 °C (codificada) e a -18 °C (controle) do processamento (P) 5. 133

Figura 4.20: Evolução das médias das notas para sabor da bebida isotônica estocada a 25 °C (codificada) e a -18 °C (controle) do processamento (P) 6. 133

Figura 4.21: Evolução das médias das notas para sabor da bebida isotônica estocada a 25 °C (codificada) e a -18 °C (controle) do processamento (P) 7. 134

Figura 4.22: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “sabor” da bebida isotônica do processamento 1. 134

Figura 4.23: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “cor” da bebida isotônica do processamento 1. 135

Figura 4.24: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “acidez” da bebida isotônica do processamento 1. 135

Figura 4.25: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “sabor” da bebida isotônica do processamento 2. 135

Figura 4.26: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “cor” da bebida isotônica do processamento 2. 136

Figura 4.27: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “acidez” da bebida isotônica do processamento 2. 136

Figura 4.28: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “sabor” da bebida isotônica do processamento 3. 136

Figura 4.29: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “cor” da bebida isotônica do processamento 3. 137

Figura 4.30: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “acidez” da bebida isotônica do processamento 3. 137

Figura 4.31: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “sabor” da bebida isotônica do processamento 4. 137

Figura 4.32: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “cor” da bebida isotônica do processamento 4. 138

Figura 4.33: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “acidez” da bebida isotônica do processamento 4. 138

Figura 4.34: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “sabor” da bebida isotônica do processamento 5. 138

Figura 4.35: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “cor” da bebida isotônica do processamento 5. 139

Figura 4.36: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “acidez” da bebida isotônica do processamento 5. 139

Figura 4.37: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “sabor” da bebida isotônica do processamento 6. 139

Figura 4.38: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “cor” da bebida isotônica do processamento 6. 140

Figura 4.39: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “acidez” da bebida isotônica do processamento 6. 140

Figura 4.40: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “sabor” da bebida isotônica do processamento 7. 140

Figura 4.41: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “cor” da bebida isotônica do processamento 7. 141

Figura 4.42: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “acidez” da bebida isotônica do processamento 7. 141

Figura 4.43: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) no pH da bebida isotônica, nos tempos inicial (A) e final (B). 144

Figura 4.44: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) na acidez titulável da bebida isotônica, nos tempos inicial (A) e final (B). 144

Figura 4.45: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) no teor de sólidos solúveis da bebida isotônica, nos tempos inicial (A) e final (B). 144

Figura 4.46: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) no parâmetro de cor L* da bebida isotônica, nos tempos inicial (A) e final (B). 145

Figura 4.47: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) no parâmetro de cor a* da bebida isotônica, nos tempos inicial (A) e final (B). 145

Figura 4.48: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) no parâmetro de cor b* da bebida isotônica, nos tempos inicial (A) e final (B). 145

Figura 4.49: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) na impressão global da bebida isotônica, nos tempos inicial (A) e final (B). 146

Figura 4.50: Representação gráfica das variações dos tempos de vida útil estimados para a bebida isotônica desenvolvida. 149

Figura 4.51: Diagrama de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) na vida útil da bebida. 150

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1: Composição centesimal do soro de queijo. 24

Tabela 1.2: Produção de soro de ricota no Brasil..... 25

Tabela 1.3: Composição centesimal do soro de ricota. 25

Tabela 1.4: Marcas de isotônico líderes no mercado brasileiro e seus respectivos ingredientes e aditivos para o sabor tangerina..... 28

Tabela 2.1: Resultados do teste de Ordenação-Preferência para definição do sabor do isotônico desenvolvido a partir de soro de ricota..... 57

Tabela 2.2: Resultados do segundo teste de Ordenação-Preferência para definição do sabor do isotônico desenvolvido a partir de soro de ricota. 58

Tabela 2.3: Resultados das análises físico-químicas do soro de ricota tratado com lactase e pasteurizado. 59

Tabela 2.4: Composição das formulações preparadas nos diferentes estágios de desenvolvimento do isotônico com soro de ricota. 61

Tabela 2.5: Contagem de bactérias mesófilas aeróbias totais em soro de ricota pasteurizado ao longo do período de desenvolvimento da formulação isotônica. 66

Tabela 3.1: Delineamento experimental com os níveis reais e codificados das variáveis independentes. 77

Tabela 3.2: Matriz de delineamento fatorial 2^2 para processamento térmico do suplemento hidroeletrolítico elaborado com soro de ricota..... 78

Tabela 3.3: Correspondência dos processamentos para cada ensaio. 78

Tabela 3.4: Volume de bebida isotônica obtido..... 85

Tabela 3.5: Contagem de bactérias mesófilas aeróbias (UFC/mL) na bebida isotônica antes da pasteurização..... 86

Tabela 3.6: Médias dos resultados das análises físico-químicas referentes ao tempo zero (t0) de estocagem dos lotes de bebida isotônica processada. 87

Tabela 3.7:Teores de sódio e potássio determinados no soro de ricota e na bebida isotônica pasteurizada. 90

Tabela 3.8: Médias e desvios padrão das notas do teste sensorial de Escala Hedônica de nove pontos para a bebida isotônica sabor tangerina elaborada com soro de ricota. 91

Tabela 3.9: Análise de variância (ANOVA) para o delineamento fatorial 2^2 para os testes físico-químicos (pH, acidez titulável, teor de sólidos solúveis) e parâmetros de cor (L*, a* e b*) do isotônico. 93

Tabela 3.10: Resultados da análise de variância para sabor, aroma e aparência do isotônico. 96

Tabela 4.1: Valores de pH da bebida isotônica. 109

Tabela 4.2: Resultados do teste de esterilidade comercial da bebida isotônica (continua)..... 110

Tabela 4.3: Resultados do teste de esterilidade comercial em bebida isotônica desenvolvida a partir de soro de ricota. 111

Tabela 4.4: Médias das contagens de bactérias mesófilas aeróbias na bebida isotônica estocada a 25 °C. 113

Tabela 4.5: Resultados das análises de sólidos solúveis, de pH e de acidez titulável para a bebida isotônica processada (continua). 115

Tabela 4.6: Resultados das análises de cor (*L*, a** e *b**) para a bebida isotônica processada (continua). 122

Tabela 4.7: Valores médios para os parâmetros de cor *L* a* b*.* 129

Tabela 4.8: Resultados dos testes de Escala Hedônica da bebida isotônica. 130

Tabela 4.9: Médias dos resultados das análises físico-químicas (pH, acidez titulável e teor de sólidos solúveis), dos parâmetros de cor (*L**, *a** e *b**) e dos testes sensoriais para os tempos inicial e final do estudo de vida útil dos sete lotes de bebida isotônica processados. 143

Tabela 4.10: Tempos inicial (t_0) e final (t_{VU}) das análises físico-químicas e sensoriais dos sete processamentos. 143

Tabela 4.11: Análise de variância (ANOVA) para o delineamento fatorial 2^2 para os testes físico-químicos (pH, acidez titulável, teor de sólidos solúveis e parâmetros de cor *L**, *a** e *b**) e sensoriais nos tempos inicial (t_0) e final (t_{VU}) das análises (continua). 146

Tabela 4.12: Tempos de vida útil da bebida isotônica desenvolvida a partir do soro de ricota, acondicionada em garrafas de PET pigmentadas (TiO_2) estocadas a 25 ºC na ausência de luz. 148

Tabela 4.13: Análise de variância (ANOVA) para estimativa da vida útil do isotônico. 150

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL 18

2. OBJETIVOS 20

2.1 Objetivo Geral 20

2.2 Objetivos Específicos 20

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 21

CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. LEITE E SORO DO QUEIJO 24

2. RICOTA E SORO DE RICOTA 24

3. SUPLEMENTO HIDROELETROLÍTICO 27

3.1. Definição e padrões de identidade 27

3.2. Mercado de isotônicos 29

3.3. Padrões microbiológicos 29

3.4. Embalagens para isotônicos 30

4. TECNOLOGIAS DE PROCESSAMENTO PARA BEBIDAS ISOTÔNICAS 30

4.1. Tecnologia dos obstáculos 31

4.2. Tratamento térmico 32

4.2.1. Resistência térmica dos micro-organismos 33

4.3. Envase asséptico 34

5. VIDA ÚTIL DE BEBIDAS ISOTÔNICAS 34

6. ANÁLISE SENSORIAL DE BEBIDAS 36

7. DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS 38

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 40

CAPÍTULO 2: DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO HIDROELETROLÍTICA ELABORADA COM SORO DE RICOTA

2.1 INTRODUÇÃO 50

2.2 OBJETIVOS 51

2.3 MATERIAL E MÉTODOS 52

2.3.1 Definição do sabor da bebida isotônica 52

2.3.2 Produção da ricota 52

2.3.3 Processamento do soro de ricota 54
2.3.4 Análise microbiológica do soro de ricota 55
2.3.5 Desenvolvimento da formulação 55
2.3.5.1 Análise sensorial da bebida formulada 56
2.3.5.2 Análises físico-químicas da bebida formulada 56
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 57
2.4.1 Definição do sabor da bebida isotônica 57
2.4.2 Processamento do soro de ricota 58
2.4.3 Desenvolvimento da formulação 59
2.4.3.1 Testes sensoriais 63
2.4.3.2 Testes microbiológicos 66
2.5 CONCLUSÕES 67
2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 68
CAPÍTULO 3: PROCESSAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO SUPLEMENTO HIDROELETROLÍTICO DESENVOLVIDO A PARTIR DE SORO DE RICOTA
3.1 INTRODUÇÃO 75
3.2 OBJETIVOS 76
3.3 MATERIAL E MÉTODOS 77
3.3.1 Delineamento fatorial 77
3.3.2 Processamento da bebida isotônica 78
3.3.3 Selagem por indução 83
3.3.4 Caracterização da bebida processada 83
3.3.4.1 Análises físico-químicas 83
3.3.4.2 Análises microbiológicas 84
3.3.4.3 Análise sensorial 84
3.3.5 Análise estatística dos resultados 85
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 85
3.4.1 Análises microbiológicas 85
3.4.2 Testes físico-químicos 86

3.4.3 Análise sensorial 90
3.4.4 Análise de dados do delineamento fatorial 91
3.5 CONCLUSÕES 98
3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 99
CAPÍTULO 4: ESTABILIDADE DO SUPLEMENTO HIDROELETROLÍTICO COM SORO DE RICOTA
4.1 INTRODUÇÃO 104
4.2 OBJETIVOS 105
4.3 MATERIAL E MÉTODOS 105
4.3.1 Teste de esterilidade comercial 106
4.3.2 Determinação do pH após o período de incubação 106
4.3.3 Estimativa da vida útil 107
4.3.3.1 Testes microbiológicos 107
4.3.3.2 Testes sensoriais 107
4.3.3.3 Testes físico-químicos 108
4.3.4 Análise estatística dos resultados 109
4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 109
4.4.1 Avaliação da Esterilidade Comercial 109
4.4.1.1 Determinação do pH 109
4.4.1.2 Testes microbiológicos 110
4.4.2 Testes microbiológicos complementares 112
4.4.3 Análises físico-químicas da bebida isotônica 114
4.4.4 Avaliação da estabilidade sensorial 129
4.4.4.1 Teste de Escala Hedônica 129
4.4.4.2 Comparação entre controle e amostra 134
4.4.4.3 Análise de dados do delineamento fatorial 142
4.4.5 Estimativa da vida útil 148
4.5 CONCLUSÕES 151
4.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 152

CONCLUSÕES GERAIS **155**

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS **156**

ANEXO **157**

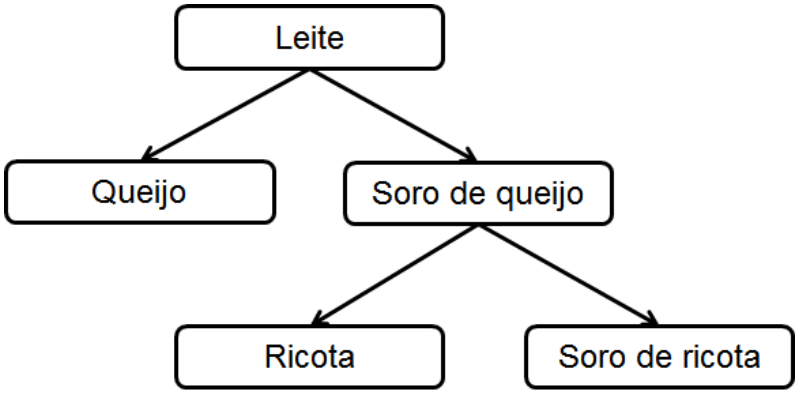
APÊNDICE **159**

1. INTRODUÇÃO GERAL

No ano de 2014 a produção de queijos sob inspeção federal alcançou 1,1 milhões de toneladas, representando um aumento de 7% comparado a 2013, porém abaixo da média de 9% nos últimos 5 anos. Em volume de leite processado, as indústrias queijeiras beneficiaram 11 bilhões de litros, aproximadamente (SCARCELLI, 2015). De acordo com Early (2000), a produção de 1 kg de queijo (por exemplo queijo mussarela) pode gerar até 9 kg de soro.

O soro de queijo é muito utilizado na indústria alimentícia como ingrediente em diversos produtos de interesse comercial, a exemplo da ricota. Porém, como subproduto da produção da ricota, obtém-se um “segundo” soro (Figura 1), poluente e com valores de demanda bioquímica de oxigênio (DBO) de 50 g/L e de demanda química de oxigênio (DQO) de 80 g/L devido à grande concentração de lactose (4,8 a 5,0%) (SARON, 2003; SANSONETTI et al., 2009). Isto significa que o oxigênio disponível para animais e plantas aquáticas aeróbias diminui a níveis abaixo do necessário para a sobrevivência destes, podendo ocasionar perdas no ecossistema local (PONSANO; PINTO; GOMEZ, 1992), dependendo da proporção do soro de ricota descartado em relação ao volume do ecossistema.

Figura 1: Sequência de produção do soro de ricota.



As características físico-químicas apresentadas pelo soro de ricota possibilitam a sua utilização como ingrediente para o desenvolvimento de novos produtos, sendo uma solução viável para a diminuição do impacto ambiental e redução dos custos com o tratamento de efluentes dos laticínios e, consequentemente, os custos com a produção (NUNES JUNIOR, 2002; BALD et al., 2014; SCHLABITZ, 2014).

Uma consulta informal aos quatro maiores laticínios produtores de ricota do país, segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ), revelou que o

soro de ricota, é atualmente destinado à alimentação de suínos ou simplesmente descartado.

Barbosa e colaboradores (2010) apontam cinco grupos de tendências de mercado no Brasil, a citar: (1) Sensorialidade e Prazer, (2) Saudabilidade e Bem-estar, (3) Conveniência e Praticidade, (4) Confiabilidade e Qualidade e (5) Sustentabilidade e Ética. O grupo 2 engloba, entre diversos itens, produtos para esportistas; o grupo 5 aborda a questão de produtos de baixo impacto ambiental, gerenciamento de resíduos e produtos vinculados a causas ambientais. Dos consumidores ouvidos em tal pesquisa, 21% acreditam que a Saudabilidade e Bem-estar, aliados à Sustentabilidade e Ética, figuram entre os quesitos mais importantes na escolha dos alimentos. Estes consumidores priorizam alimentos que tragam benefícios adicionais à saúde, cuja produção proteja o meio ambiente.

De 2009 a 2013 houve um aumento de 11% no número de pessoas que praticam atividade física no tempo livre, sendo este aumento um fato determinante para uma sociedade mais saudável (BRASIL, 2014), já que 51% da população brasileira acima de 18 anos estão acima do peso ideal (BRASIL, 2013)

Os suplementos hidroeletrolíticos, ou bebidas isotônicas, são bebidas que apresentam pressão osmótica semelhante à pressão osmótica sanguínea, favorecendo uma reposição hídrica rápida e aumentando a velocidade de absorção dos nutrientes. São bebidas especialmente formuladas para atletas e praticantes de atividades físicas, principalmente em climas quentes e úmidos. O seu consumo possibilita uma recuperação mais rápida do corpo fadigado e um melhor rendimento, além de prevenir a desidratação (MONTEIRO, DE MARCHI, 2010).

O consumo de isotônicos no Brasil vem aumentando com o passar do tempo, porém ainda é baixo (0,7 L/habitante/ano) quando comparado ao consumo dos Estados Unidos (15,6 L/habitante/ano), maior consumidor mundial (ABIR, 2011; CARRO, 2014).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo do presente trabalho de pesquisa consistiu no aproveitamento do soro de ricota destinado ao desenvolvimento de uma bebida isotônica com boa palatabilidade e estabilidade sem refrigeração.

2.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos da pesquisa estão enumerados a seguir.

1. Desenvolver uma formulação isotônica, a partir do soro de ricota, em conformidade com os padrões de identidade estabelecidos pela Legislação Alimentar vigente.
2. Estabilizar a bebida desenvolvida empregando-se a tecnologia dos obstáculos, por meio da acidificação, do tratamento térmico, do envase asséptico em embalagens previamente esterilizadas e hermeticamente seladas.
3. Avaliar a esterilidade comercial do produto.
4. Estimar o tempo de vida útil da bebida acondicionada em garrafas plásticas a 25 °C, baseado em testes sensoriais e microbiológicos.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIR – Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas Não Alcoólicas. **Consumo de todas as bebidas comerciais 2005-2010**, 2011. Disponível em: <http://abir.org.br/2011/10/24/dados-de-mercado-2011/>. Acessado em: 15 abr. 2012.

BALD, J.A.; VINCENZI, A.; GENNARI, A.; LEHN, D.N.; SOUZA, C.F.V. Características físico-químicas de soros de queijo e ricota produzidos no Vale do Taquari, RS. **Revista Jovens Pesquisadores**, Santa Cruz do Sul, v.4, n.1, p.90-99, 2014.

BARBOSA, L.; MADI, L.; TOLEDO, M.A.; AMARAL, R. **As tendências da alimentação – Brasil Food Trends 2020**. 2010. Disponível em: <http://www.brasilfoodtrends.com.br/docs/tendencias_alimentacao.pdf>. Acessado em 04 maio15.

BRASIL. **Obesidade atinge mais da metade da população brasileira, aponta estudo**. 2013. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/saude/2013/08/obesidade-atinge-mais-da-metade-da-populacao-brasileira-aponta-estudo>. Acessado em 04 maio 2015.

BRASIL. **Pesquisa revela aumento na prática de atividades físicas**. 2014. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/saude/2014/05/pesquisa-revela-aumento-na-pratica-de-atividades-fisicas>. Acessado em 04 maio 2015.

CARRO, R. **Ambev e Coca agitam o mercado de isotônicos**. Disponível em: http://brasileconomico.ig.com.br/negocios/2014-09-15/ambev-e-coca-agitam-mercado-de-isotonicos.html. Acessado em 24 jul. 2015.

EARLY, R. **Tecnología de los productos lácteos**. Zaragoza: Acribia, 2000.

MONTEIRO, M; DE MARCHI, R. **Bebidas isotônicas.** In Bebidas não alcoólicas – Ciência e Tecnologia. Cap5. Ed Blucher. 2010.

NUNES JUNIOR, M.L. **Aplicação da metodologia produção limpa em pequena empresa de laticínios**. 2002. 109P. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimento) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

PONSANO, E.H.G.; PINTO, M.F.; GOMEZ, R.J.H.C. Soro de leite - obtenção, características e aproveitamento: revisão. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.13, n.1, p.92-96, 1992.

SANSONETTI, S.; CURCIO, S.; CALABRÒ, V.; IORIO, G. Bio-ethanol production by fermentation of ricotta cheese whey as an effective alternative non-vegetable source. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v.33, n.12, p.1687-1692, 2009.

SARON, M.L.G. **Aproveitamento do permeado de soro de leite bovino através da transformação da lactose em lactulose e como ingrediente para meios de cultura e bactérias probióticas**. 2003. 107p. Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

SCARCELLI, F. A evolução do mercado de queijos em 2014 e suas perspectivas. **Revista Leite & Derivados**, São Paulo, n.152, p.20-22, 2015.

SCHLABITZ, C. **Aplicação de soro de ricota na elaboração de bebida láctea fermentada funcional**. 2014. 144p. Dissertação (Mestre em Biotecnologia) – Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, 2014.

Capítulo 1

REVISÃO DE LITERATURA

1. LEITE E SORO DO QUEIJO

O leite fluido é utilizado na elaboração de uma grande diversidade de produtos, destacando-se o queijo, que pode ser produzido por via ácida, enzimática ou, ainda, utilizando-se a ultrafiltração e posterior coagulação do concentrado por uma das vias citadas. A agregação das micelas de caseína forma um gel que é cortado, favorecendo a sinérese e permitindo a separação do soro do queijo da massa de caseína e lipídios (WALSTRA *et al*., 2001). A Tabela 1.1 apresenta a composição do soro de queijo, muito utilizado na indústria alimentícia como ingrediente para diversos produtos de interesse comercial, a exemplo da ricota.

Tabela 1.1: Composição centesimal do soro de queijo.

Componente	% (m/v)
Água	93 – 94
Lactose	4,1 – 5,1
Proteínas	0,3 – 1,2
Minerais	0,2 – 0,6
Vitaminas	0,8

Fonte: JOHANSEN; VEGARUD; SKEIE, 2002; ZUÑIGA, 2003; TEIXEIRA; FONSECA, 2008; RODRIGUES, 2010.

2. RICOTA E SORO DE RICOTA

A ricota é um produto de origem italiana, normalmente fabricada por meio de uma precipitação dupla sequencial (caseínas e soroproteínas) para fracionar as proteínas do leite. No Brasil, a ricota é produzida utilizando-se soro de queijo como matéria-prima, e por isso, é conhecida como queijo de albumina, pois esta é uma proteína do soro presente em grande quantidade na ricota e que não é coagulada pela protease renina. O princípio de fabricação da ricota é baseado na floculação das proteínas do soro por meio de calor associado à acidificação. É um produto de alto valor proteico e baixo índice calórico, sendo indicado em dietas para emagrecimento. O rendimento de sua fabricação situa-se em torno de 4 a 5% em relação ao volume de soro processado (ALBUQUERQUE, 2002).

Em 2004, ano mais recente apontado nas estatísticas localizadas, foram produzidas 8.610 toneladas de ricota no Brasil [Embrapa, 200-]. Segundo a Empresa

Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) - Gado de Leite (ZOCCAL, 2011), a produção de leite no referido ano foi próxima a 23,5 bilhões de litros. A estimativa para a produção de leite fluido no Brasil em 2014, segundo o *United States Department of Agriculture/Foreign Agricultural Service* (USDA/FAS, 2013), foi de 33 bilhões de litros.

Se o consumo de ricota mantiver a mesma taxa de crescimento registrada para a produção de leite fluido, no período de 2004 até 2014, pode-se estimar uma produção de 12.090 toneladas de ricota até o final do ano de 2014. Segundo Albuquerque (2002), a ricota apresenta um rendimento próximo a 5% em relação ao volume do soro de queijo utilizado. Desta maneira, fez-se a estimativa de soro de ricota que seria produzido no ano de 2014, resultando em um valor de 229.722 toneladas, como mostra a Tabela 1.2.

Tabela 1.2: Produção de soro de ricota no Brasil.

Produto	Ano		Unidade
	2004	2014	
Leite fluido	23,5	33	bilhões de litros
Ricota	8.610	**12.090**	toneladas
Soro de ricota		**229.722**	toneladas

Os valores em negrito foram calculados com base nos dados fornecidos pela Embrapa [200-], Zoccal (2011) e USDA/FAS (2013).

O mercado está criando estímulos para que as empresas invistam na preservação do meio ambiente. A água é um recurso natural limitado e a utilização de forma racional desta pode significar aumento nos lucros da indústria e determinar por sua permanência num mercado tão concorrido (BARANA et al., 2011).

O soro de ricota é constituído por um elevado teor de água, proteínas remanescentes (que não foram segregadas nas etapas de produção de queijo e de ricota), lactose, sais minerais e ácidos orgânicos, conforme apresentado na Tabela 1.3.

Tabela 1.3: Composição centesimal do soro de ricota.

Água (%)	Proteínas (%)	Lactose (%)	Sais (%)	Ácidos orgânicos (%)
93,2 - 93,8	0,15 - 0,22	4,8 - 5,0	1,0 - 1,3	0,20 - 0,25

Fonte: Adaptado de Sansonetti et al., 2009.

Por causa da quantidade de lactose presente no soro da ricota, este possui elevados valores de demanda bioquímica de oxigênio (DBO – 50 g/L) e de demanda química de oxigênio (DQO – 80 g/L), sendo altamente poluente (SARON, 2003;

SANSONETTI et al., 2009). Estima-se que somente a Itália produza cerca de 1 milhão de toneladas de soro de ricota por ano, enfrentando assim, significativos problemas ambientais relacionados a este descarte (SARACENO et al., 2011).

Bald e colaboradores (2014) afirmam que pelas características físico-químicas apresentadas pelo soro de ricota, este poderia ser utilizado para o desenvolvimento de novos produtos, diminuindo desta maneira o impacto ambiental e os custos de operação nas estações de tratamento de efluentes dos laticínios. Saraiva e colaboradores (2009) constataram que a geração de soro contribui para o aumento de efluentes tanto em volume quanto em matéria orgânica.

Alguns estudos propõem o aproveitamento do soro de ricota para produção de bioetanol por meio de fermentação com a levedura *Kluyveromyces marxianus* (SANSONETTI et al., 2009; SANSONETTI et al, 2010; SANSONETTI et al., 2011; SARACENO et al., 2011; ZOPPELLARI; BARDI, 2013; BITELLO et al., 2013), sendo esta então, uma fonte não vegetal de obtenção do combustível.

No que concerne ao aproveitamento do soro de ricota para alimentação humana, Gerhardt et al (2013) afirmam que devido ao alto teor de lactose presente no soro, este poderia ser utilizado em produtos que passam pelo processo de fermentação lática, como por exemplo bebidas lácteas e sobremesas. Contudo, Oliveira (2011) alega que existem poucos estudos acerca da utilização de soro de ricota para a produção de bebidas lácteas não fermentadas.

Tebaldi (2005) elaborou uma bebida láctea fermentada utilizando o soro da ricota juntamente com extrato solúvel de soja. Ramos (2010) converteu a lactose presente no soro de ricota em lactulose (potencial prebiótico) para aplicação em queijo tipo *quark* e iogurte, Gerhardt e colaboradores (2013) produziram uma bebida láctea fermentada com micro-organismos probióticos e colágeno hidrolisado, Hartmann e colaboradores (2013) produziram uma sobremesa láctea sabor chocolate elaborada com soro de ricota e Schlabitz (2014) elaborou uma bebida láctea fermentada com incorporação de soro de ricota, prebióticos, probióticos e antioxidantes.

Chávez (2001) elaborou uma bebida isotônica e Fontes et al. (2015) elaboraram um repositor eletrolítico com permeado da ultrafiltração de leite, sabores morango e limão, respectivamente. No entanto, a literatura consultada não relata a utilização/aproveitamento do soro de ricota como descrito no presente trabalho.

3. SUPLEMENTO HIDROELETROLÍTICO

3.1. Definição e padrões de identidade

Os suplementos hidroeletrolíticos, conhecidos popularmente como bebidas isotônicas ou simplesmente isotônicos, apresentam concentração de minerais semelhantes às encontradas nos fluidos orgânicos (sangue). Os isotônicos são bebidas formuladas especialmente para atletas e praticantes de exercícios físicos intensos (MONTEIRO; DE MARCHI, 2010). O balanço entre os eletrólitos (minerais) evita a desidratação durante a prática esportiva. Contudo, o seu sabor é pouco agradável, justificando a adição de agentes de sabor à base de frutas como uma prática usual (PETRUS, 2000).

As bebidas isotônicas são formuladas para suprir a perda de água e de eletrólitos durante a prática de atividades físicas, em que o corpo, ao dissipar calor para o ambiente, tem uma intensa perda de líquido e de eletrólitos (sódio, potássio, cloreto...). Se estas perdas não forem compensadas, o organismo passa a ter um baixo nível de líquido corporal, o que leva ao aumento de riscos de exaustão e choque térmico, complicações na função renal e câimbras musculares (MONTEIRO; DE MARCHI, 2010).

De acordo com a Resolução n° 18, de 27 de abril de 2010 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2010), um suplemento hidroeletrolítico para atletas é um produto destinado a auxiliar a hidratação e deve atender aos seguintes padrões de identidade:

- A concentração de sódio no produto pronto para consumo deve situar-se entre 460 e 1150 mg/L, devendo ser utilizados sais inorgânicos para fins alimentícios como fonte de sódio.
- A osmolalidade do produto pronto para consumo deve situar-se entre 270 e 330 mOsm/kg água de água.
- Os carboidratos podem constituir até 8% (m/v) do produto pronto para consumo (quanto ao teor de frutose, quando adicionada, não pode ser superior a 3% (m/v) do produto pronto pra consumo).
- O produto pode ser adicionado de vitaminas e minerais, conforme regulamento técnico específico sobre adição de nutrientes essenciais.
- O produto pode ser adicionado de potássio em até 700 mg/L.
- O produto não pode ser adicionado de outros nutrientes e não nutrientes.

- O produto não pode ser adicionado de fibras alimentares, amidos e polióis.

De acordo com Monteiro e De Marchi (2010), bebidas isotônicas com 6 a 8% de carboidratos em sua composição melhoram o desempenho do atleta e entram mais rapidamente na corrente sanguínea que a água, reduzindo o tempo de esvaziamento gástrico, contribuindo para uma hidratação mais rápida. Os carboidratos mais utilizados são glicose, maltodextrina e sacarose.

Os acidulantes intensificam o sabor da bebida e ajudam na sua conservação, já que reduzem o pH e consequentemente restringem o desenvolvimento microbiano, sendo o ácido cítrico o mais utilizado. Algumas marcas optam por utilizar conservadores químicos, que impedem ou retardam as alterações provocadas por micro-organismos. Os corantes e aromatizantes são utilizados para conferir ou intensificar a cor, o sabor e o aroma (MONTEIRO, DE MARCHI, 2010) (Tabela 1.4).

Tabela 1.4: Marcas de isotônico líderes no mercado brasileiro e seus respectivos ingredientes e aditivos para o sabor tangerina.

Marca (empresa)	Porcentagem de participação no mercado nacional (%)[1]	Ingredientes para o sabor tangerina
Gatorade (PepsiCo)	73,6	Água, sacarose, glicose, cloreto de sódio, citrato de sódio, fosfato de potássio monobásico, acidulante: ácido cítrico, aroma natural de tangerina e corante artificial: amarelo crepúsculo FCF
Powerade (Coca-Cola)	16,4	Água, açúcar, cloreto de sódio, citrato de potássio, cloreto de magnésio, cloreto de cálcio, fosfato de potássio, vitaminas B3, B6 e B12, acidulante: ácido cítrico, aromatizante, estabilizantes: acetato isobutirato de sacarose e dioctil sulfosuccinato de sódio, edulcorante: sucralose e corantes artificiais: amarelo crepúsculo FCF e tartrazina
Marathon (GlobalBev)	2,0	Água, açúcar, cloreto de sódio, fosfato de potássio monobásico, citrato de sódio, acidulante: ácido cítrico, aroma idêntico ao natural tangerina, espessante: goma arábica, conservantes: benzoato de sódio e sorbato de potássio, antioxidante: ácido ascórbico e corante artificial: amarelo crepúsculo

[1] CASADO (2012); CARRO (2014).

3.2. Mercado de isotônicos

De acordo com a Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas não Alcoólicas (ABIR, 2011), o consumo de isotônicos cresceu 20% em 2011, um aumento expressivo, comparado a 13,2%, que foi a média de crescimento no período de 2005 a 2009. Em 2010, 139 milhões de litros da bebida foram produzidos no Brasil, com consumo per capita de 0,73 L/habitante/ano, sendo a zona metropolitana do Rio de Janeiro a região de maior consumo, com 1,70 L/habitante/ano, seguido da grande São Paulo, com 1,33 L/habitante/ano. A região de menor consumo é o Norte do país (0,26 L/habitante/ano).

Carro (2014) atribui o crescimento acelerado do consumo de bebidas isotônicas ao aumento do número de praticantes de atividades físicas e à maior compreensão do impacto que uma boa alimentação e hidratação podem trazer no desempenho durante as atividades físicas e nos resultados corporais.

No Brasil, a marca Gatorade, da PepsiCo, é a líder de mercado de isotônicos com 73,6% das vendas. Em segundo lugar está o isotônico Powerade, da Coca-Cola, com 16,4% e a marca Marathon (GlobalBev), que perdeu 1,5% da sua participação de 2008 a 2013, aparece em terceiro lugar com 2,0% do mercado (CASADO, 2012; CARRO, 2014) (Tabela 1.4).

3.3. Padrões microbiológicos

A Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA (BRASIL, 2001) não estabelece padrões microbiológicos para os suplementos hidroeletrolíticos, mas por se tratar de uma bebida muito ácida, com valores de pH próximos a 3,5, somente um grupo restrito de micro-organismos consegue se desenvolver, incluindo os bolores, as leveduras e as bactérias láticas (LANDRY; SCHWAB; LANCETTE, 2001). Franco e Landgraf (2008) afirmam que os bolores são, em sua grande maioria, mesófilos aeróbios estritos e as leveduras, também mesófilas, podem ser aeróbias ou anaeróbias facultativas, ambos os grupos eliminados em temperaturas usuais de pasteurização, assim com as bactérias láticas.

De acordo com Petrus (2000), a alta acidez do isotônico, o tratamento térmico (pasteurização), a adição de conservadores, a assepsia e adequação da embalagem e as condições de estocagem são fatores determinantes para a conservação da bebida.

3.4. Embalagens para isotônicos

As embalagens de bebidas formam um complexo segmento tecnológico no setor de processamento de alimentos e tem como requisitos básicos (GALLAGHER; MONTEIRO; KOPPER, 2011):

- Total proteção à prova de vazamentos e de contaminação;
- Proteção do conteúdo contra a deterioração química;
- Impedir a adsorção de sabores externos;
- Garantia de higiene e segurança;
- Ser econômica, fácil de utilizar e de reciclar;
- Ter boa aparência estética.

As bebidas isotônicas podem ser acondicionadas em garrafas de vidro, de PET, embalagens flexíveis, latas de alumínio, copos de polipropileno e laminados cartonados. Entretanto, até 1998 a maioria dos isotônicos era comercializada em embalagens de vidro (PETRUS, 2000). Atualmente, as garrafas de PET assumiram esta posição.

Ao longo dos anos, materiais plásticos têm substituído progressivamente o vidro e o metal. Este fato se deve à sua versatilidade, conformabilidade, menor custo de fabricação e leveza (BUTT, 1999). As garrafas de PET são 100% recicláveis, (tornando a produção bastante sustentável com relação à proteção ao meio ambiente) (KRONES NEWS, 2008), leves, transparentes, inquebráveis, brilhantes e chamativas, possuem ótima resistência química entre outros benefícios (ABIPET, 2010). De maneira geral, as garrafas de PET têm se apresentado como uma opção interessante ao mercado atual por permitir o envase de praticamente qualquer tipo de bebida (CAMILO, 2010), incluindo as bebidas isotônicas, que em quase sua totalidade, são envasadas em garrafas de PET (EMBALAWEB, 2014).

4. TECNOLOGIAS DE PROCESSAMENTO PARA BEBIDAS ISOTÔNICAS

O processamento dos alimentos tem por objetivo manter a qualidade nutritiva e as características sensoriais, bem como impedir o desenvolvimento de micro-organismos e toxinas, aumentando o tempo de vida útil dos produtos (BRASIL, 2004; MARTINS, 2008).

Durante o processamento e a estocagem dos alimentos, a cor, a textura, o sabor, o aroma e a qualidade nutricional devem ser conservados. Ademais, deve existir sempre um compromisso entre a qualidade e a segurança dos alimentos (BARACAT, 2006).

Atualmente há uma busca por parte dos consumidores por alimentos mais naturais (sem a adição de conservadores químicos), mas que preservem os benefícios naturais dos produtos *in natura*. Este fato gera uma grande necessidade de se aprimorar as tecnologias de conservação de alimentos (GEREMIAS-ANDRADE, 2014). A combinação de diversas tecnologias, baseado no conceito dos obstáculos, permite o desenvolvimento de alimentos estáveis, seguros e mais palatáveis.

4.1. Tecnologia dos obstáculos

A estabilidade microbiológica e sensorial da maioria dos alimentos é baseada em uma combinação de fatores de conservação combinados, chamados de obstáculos (LEISTNER, 1995; GUPTA et al., 2012). Esta conciliação de tecnologias tem como objetivo a produção de alimentos seguros, estáveis, nutritivos, de alta qualidade sensorial, além de apresentar uma relação custo-benefício vantajosa (LEISTNER; GORRIS, 1995), que atendam a demanda dos consumidores que buscam alimentos processados com características mais próximas do alimento *in natura* (WORDON; MORTIMER; MCMASTER, 2012).

Os obstáculos mais importantes empregados na conservação de alimentos são: tratamento térmico, atividade de água (Aa), pH, potencial de oxirredução (Eh) e conservadores químicos (como sorbatos e benzoatos). Contudo, existem outros obstáculos que favorecem a manutenção da qualidade dos alimentos (LEISTNER, 2000), como a refrigeração. Porém este método acaba acarretando custos adicionais ao processamento devido à instalação de câmaras frigoríficas e aumento nos gastos energéticos (ALEXANDRE; CUNHA; HUBINGER, 2004).

Desta forma, consideram-se diversos obstáculos na conservação de suplementos hidroeletrolíticos, que podem atuar isolada ou sinergicamente, e que asseguram a estabilidade microbiológica da bebida (PETRUS, 2000):

- pH ácido (< 4,6).
- Adição de conservadores químicos.
- Tratamento térmico (pasteurização).
- Assepsia e adequação da embalagem.
- Envase asséptico.

- Fechamento hermético da embalagem.

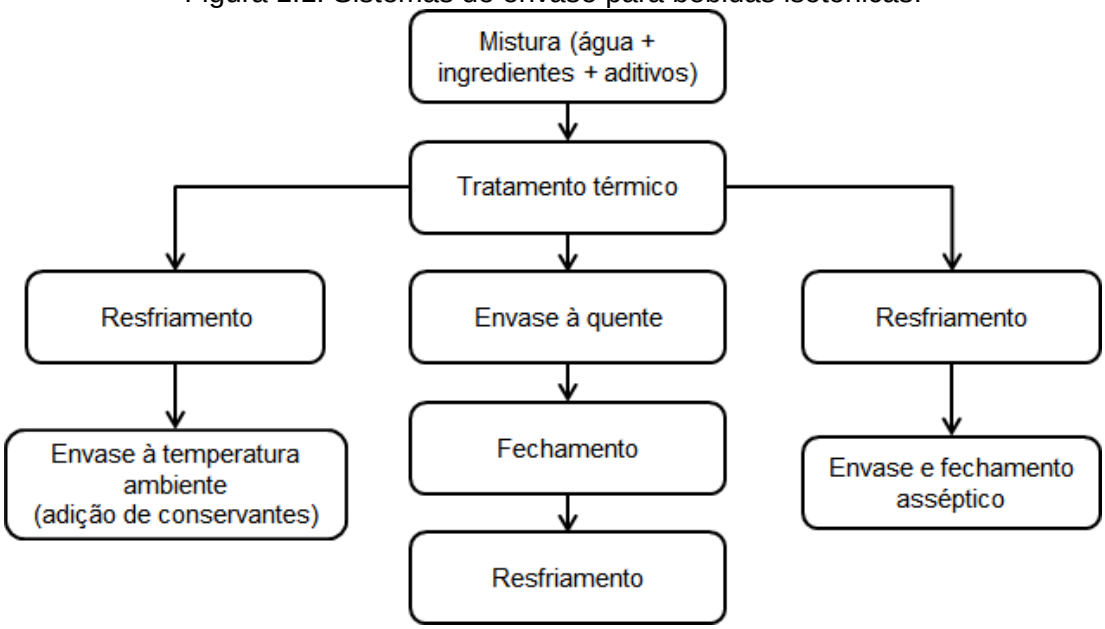
4.2. Tratamento térmico

A pasteurização é um tratamento térmico pelo qual o produto é submetido a temperaturas inferiores a 100 °C, à pressão atmosférica, e tem como objetivos a destruição de micro-organismos patogênicos, a redução da população microbiana inicial (deteriorantes) do alimento, a preservação das características sensoriais e do valor nutritivo e a extensão do tempo de vida útil (EARLY, 2000; ORDÓÑEZ et al., 2005; FELLOWS, 2006).

No caso de alimentos de alta acidez (pH < 4,6), os micro-organismos deteriorantes do produto são os bolores, as leveduras e as bactérias láticas (LANDRY; SCHWAB; LANCETTE, 2001), que são facilmente eliminadas em temperaturas que variam de 60 a 90 °C.

De acordo com Petrus e Faria (2005), as bebidas isotônicas estão disponíveis nas formas de pós, concentrados ou prontas para beber. No caso das bebidas prontas para consumo, estas podem ser tratadas termicamente e envasadas a temperatura ambiente, em condições assépticas ou utilizando-se um agente conservador (Figura 1.1). Existe ainda a possibilidade do enchimento a quente em latas de alumínio, em garrafas de vidro, de polipropileno (PP) ou de polietileno tereftalato (PET) termofixado.

Figura 1.1: Sistemas de envase para bebidas isotônicas.



Fonte: PETRUS, 1999.

Conforme Monteiro e De Marchi (2010), na pasteurização com sistema de enchimento a quente, a bebida é submetida a temperaturas acima de 90 °C durante 45

a 60 segundos. Em seguida, é realizado o enchimento das embalagens, que são fechadas e invertidas, com o objetivo de pasteurizar a tampa; as embalagens são resfriadas, alcançando desta maneira, a esterilidade comercial. No acondicionamento asséptico, o ambiente de envase é rigorosamente controlado em relação à pureza e à esterilidade do ar, além de ter pressão positiva. Esta tecnologia de envase visa aumentar a vida útil do produto sem a necessidade de refrigeração e de adição de conservadores químicos, reduzindo desta forma os custos de estocagem e de distribuição.

4.2.1. Resistência térmica dos micro-organismos

A resistência térmica dos micro-organismos depende de vários fatores. Existem variações entre diferentes espécies e até mesmo entre cepas de uma mesma espécie. Os esporos apresentam uma resistência maior que do que as células vegetativas, chegando a sobreviver por várias horas a 100 °C. A grande parte das células vegetativas é eliminada a temperaturas próximas a 75 °C por alguns minutos. Este efeito do calor ainda pode ser aliado ao pH, atividade de água, tipo de alimento entre outros (JOYCE, 1993).

Dois parâmetros são utilizados para avaliar a resistência térmica dos micro-organismos: o tempo de redução decimal (valor D) e o coeficiente de temperatura (valor z). O valor D, também chamado de razão letal, é definido como o tempo (em minutos) necessário para reduzir a 1/10 a população de um dado micro-organismo, a uma dada temperatura, ou seja, uma redução de 90% da população. O valor D é característico de cada micro-organismo e estabelecido a cada temperatura, separadamente. Quase todos os bolores, leveduras e bactérias não esporuladas têm um valor D correspondente a alguns segundos a 70 °C. O valor z é definido como a variação de temperatura (em °C) necessária para provocar uma variação de 10 vezes no valor D, ou seja, promover uma redução ou uma elevação decimal no valor D. Leveduras e células vegetativas têm valor z entre 5 e 8 °C (SHAPTON; SHAPTON, 1991; SILVA et al., 2010).

Como regra geral, a resistência térmica dos micro-organismos aumenta com o decréscimo da atividade de água, porém a composição do meio é muito importante. A letalidade do calor pode ser aumentada pela presença de ácidos e diminuída por açúcares, que reduzem a atividade de água. Com relação ao pH, normalmente, a resistência dos micro-organismos é mais elevada em meios com valores próximos à neutralidade (SHAPTON; SHAPTON, 1991).

4.3. Envase asséptico

O sistema de envase asséptico tem se mostrado como uma importante tecnologia no que concerne à redução ou eliminação do uso de conservadores químicos em alimentos; permitindo desta maneira, a melhora da qualidade e aumento da vida útil do produto sem necessidade do uso destes aditivos.

Uma das tecnologias de embalagem para alimentos fluidos (bombeáveis) de maior destaque nas últimas décadas tem sido o sistema de envase asséptico, que é baseado no acondicionamento do alimento processado em uma embalagem previamente higienizada, sob condições assépticas (HOLDSWORTH, 1992, BUCHNER, 1993, LÓPEZ-GÓMEZ; ROS-CHUMILLAS; BELISARIO-SHÁNCHEZ, 2009). Em sistemas de envase asséptico, alimento e embalagem são esterilizados em locais diferentes (VIGNALI, MANFREDI, 2015) e o grau de eficiência do envase dependerá da qualidade do ar, que deve ser rigorosamente controlado, seguido de fechamento asséptico e hermético (ISO 14644-1, 2001, LÓPEZ-GÓMEZ, 2013).

As vantagens inerentes ao sistema de envase asséptico incluem a possibilidade de aumento da vida útil do produto e da eliminação da cadeia do frio no transporte, distribuição e estocagem, além de permitir um controle de processo mais confiável (KLAUS, 2002, BOTTANI et al., 2011). Este sistema também se destaca por permitir o uso de embalagens termossensíveis, como os termoplásticos, que são leves e podem ser moldados em diversos formatos. Os principais termoplásticos utilizados incluem o polietileno de baixa densidade (PEBD), polietileno de alta densidade (PEAD), policloreto de vinila (PVC) e o polietileno tereftalato (PET) (ALVES; GARCIA, 1993).

Nesta pesquisa, os obstáculos atuantes na estabilização do isotônico foram a acidificação do soro de ricota, decorrente do desenvolvimento da formulação com um pH final inferior a 4, a pasteurização e o acondicionamento asséptico em embalagens hermeticamente seladas.

5. VIDA ÚTIL DE BEBIDAS ISOTÔNICAS

A expressão “vida de prateleira” ou “vida útil”, conhecida também como *shelf life*, pode ser traduzida como o período de tempo em que o alimento pode ser conservado, em determinadas condições de temperatura, de umidade relativa, de luz, de composição gasosa etc, sofrendo alterações consideradas aceitáveis pelo

fabricante, pelo consumidor e pela legislação alimentar vigente. Portanto, determinar a vida útil de um alimento é estimar o momento em que o seu consumo torna-se impróprio, do ponto de vista de qualidade e de segurança (ASTM, 2005).

Os alimentos são sistemas complexos e dinâmicos, sendo virtualmente impossível identificar e isolar uma única reação química que explique as mudanças observadas ao longo do tempo. As reações de transformação pelo qual os alimentos passam incluem degradação microbiológica, senescência, reações enzimáticas e não enzimáticas, oxidação de lipídeos, degradação de vitaminas, mudanças de cor, alterações sensoriais e físicas. Contudo, cada alimento apresenta uma reação mais marcante e determinante para a estimativa de sua vida útil (CAMARGO, 2005).

Faria (1993) aponta alguns fatores que exercem efeito na estabilidade dos alimentos, a citar:

- Desenvolvimento microbiano: transformações nos alimentos em decorrência do desenvolvimento microbiano podem ocorrer de forma bem mais rápida do que as outras alterações, principalmente quando a temperatura e a atividade de água são favoráveis. As alterações nos alimentos decorrentes deste efeito são em geral mais facilmente identificadas do que alterações decorrentes de reações enzimáticas ou químicas, apresentando formação de gases e/ou acúmulo de focos de micro-organismos.
- Temperatura de estocagem: este é o fator extrínseco que mais afeta a conservação dos alimentos durante a estocagem e comercialização, pois todas as transformações biológicas ou físico-químicas variam de intensidade de acordo com a temperatura do ambiente ao qual o alimento é exposto.
- Concentração de oxigênio: a presença de oxigênio no interior das embalagens favorece as alterações oxidativas e o desenvolvimento de micro-organismos aeróbios. Se a embalagem for hermeticamente fechada, a reação de oxidação será limitada pela presença de oxigênio no espaço livre da embalagem e no dissolvido no alimento. Caso a embalagem utilizada seja permeável ao oxigênio, a velocidade da reação dependerá do suprimento de oxigênio pela difusão através da embalagem. As reações de oxidação resultam em perdas do valor nutritivo (vitaminas), perdas sensoriais e formação de compostos voláteis desagradáveis.
- Alterações sensoriais: a qualidade sensorial (sabor, odor e aparência) de um alimento se altera quando a microbiota deste se desenvolve e metaboliza nutrientes disponíveis no meio, tornando o alimento inaceitável com uma população de micro-organismos elevada. As reações físico-químicas e

oxidativas também geram compostos que degradam a qualidade sensorial do alimento.

Fontes e colaboradores (2015) verificaram que a presença de micro-organismos não foi o fator determinante na vida útil de uma bebida eletrolítica pasteurizada a 65 °C por 30 minutos e estocada a 7 e a 25 °C durante um período de 30 dias, por esta apresentar alta acidez (pH ≈ 3,42) e conter conservadores químicos.

De Marchi, Monteiro e Cardello (2003) concluíram que uma bebida isotônica adicionada de polpa de maracujá teve a sua vida útil limitada pela perda de qualidade sensorial, tanto para a bebida estocada sob refrigeração (141 dias) como a temperatura ambiente (30 dias). Os autores ressaltam que as características físico-químicas e microbiológicas não foram alteradas significativamente ao longo da vida útil do produto.

Petrus e Faria (2005), ao desenvolverem uma bebida isotônica com vitamina C (ácido ascórbico), afirmam que se a vida útil fosse estabelecida em função da degradação da vitamina, após 16 semanas de estocagem a bebida teria atingido 50% de degradação do ácido ascórbico. Todavia, ressaltam que os suplementos hidroeletrolíticos não possuem a função de atuar como fonte de vitaminas, por isso, esta perda não implicaria num fator crítico ou limitante para a vida útil do produto.

6. ANÁLISE SENSORIAL DE BEBIDAS

Os métodos empregados na análise sensorial de alimentos dividem-se em três grupos, a citar (FERREIRA et al., 2000, BEHRENS, 2011):

Métodos de diferença ou discriminativos

Avaliam se existe diferença sensorial perceptível entre as amostras, em termos globais ou em relação a um atributo específico, e estimam o tamanho de uma eventual diferença.

Métodos descritivos

Descrevem as amostras qualitativamente e avaliam a intensidade de atributos sensoriais (como por exemplo, sensações olfativas (baunilha, chocolate, frutado etc.)) e sensações de gosto (doce, salgado, ácido, amargo e *umami*) por intermédio de provadores treinados.

Métodos afetivos

Avaliam a aceitação ou a preferência de uma amostra com provadores não treinados e que indicam o quanto gostaram ou desgostaram da amostra baseado em uma escala sensorial.

Os métodos de avaliação sensorial empregados no desenvolvimento do presente trabalho estão brevemente descritos a seguir.

O teste afetivo “Escala do Ideal” permite o acesso à informação acerca da intensidade considerada ideal pelo provador ou porque ela não é ideal (como por exemplo, mais forte ou mais fraca) (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999, FERREIRA et al., 2000).

O teste de “Ordenação-preferência” permite a comparação entre três ou mais amostras com relação à preferência. Ele é muito simples de ser elaborado, porém os resultados são simplesmente ordinais e não se consegue estabelecer um grau de diferença entre as amostras. Tanto as amostras que apresentam grande grau de diferença quanto as que apresentam uma diferença pequena, são separadas por um ponto de ordenação (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999, STONE; SIDEL, 2004).

A “Escala Hedônica” está entre os testes sensoriais mais empregados para medida de aceitação ou conhecimento do “*status* afetivo” dos consumidores com relação à amostra (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999, FERREIRA et al., 2000). Os resultados expressam o quanto os provadores gostaram ou desgostaram do produto (ABNT, 1993), com variação gradativa para cada atributo analisado (DUTCOSKY, 2011).

De acordo com Singh e Anderson (2004), as alterações sensoriais em bebidas estão relacionadas à mudança ou degradação na cor, no aroma, no sabor e na viscosidade da bebida.

As bebidas isotônicas, além de conferirem rápida hidratação, devem apresentar características sensoriais que garantam a sua aceitação por parte dos consumidores. Características de aparência, sabor e aroma destas bebidas determinam a sua qualidade sensorial final e influenciam o consumidor no momento da escolha e da compra. Assim, a aplicação da análise sensorial mostra-se fundamental desde a etapa de desenvolvimento da formulação até a análise de vida útil de bebidas isotônicas, possibilitando a identificação de alterações decorrentes da estocagem e mudanças de ingredientes e/ou processos que não seriam detectadas por procedimentos analíticos.

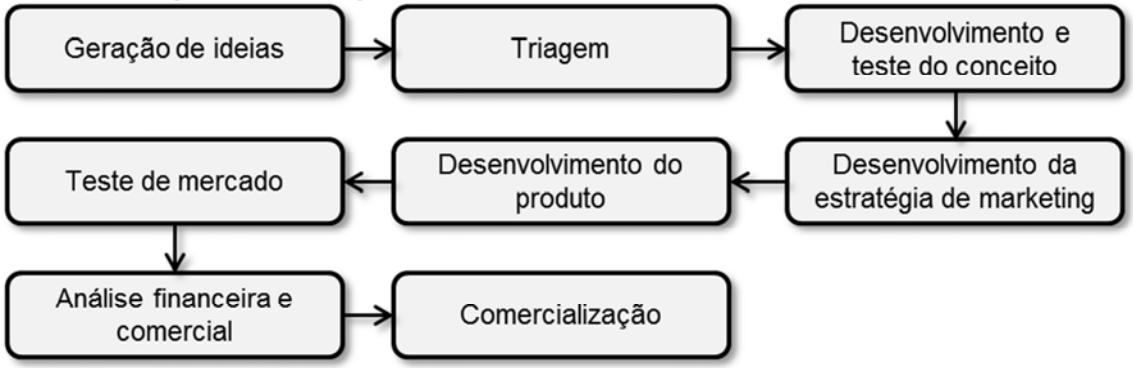
7. DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS

O setor de desenvolvimento de novos produtos (DNP) pode ser considerado, por meio da criação e da competitividade, a veia mantenedora de uma indústria, já que este deve estar sempre inovando para se manter no mercado e atrair consumidores. A criação de um novo produto pode surgir a partir de diferentes pontos de vista: do consumidor, da gerência, do departamento de desenvolvimento e do *marketing*. O lançamento de um novo produto faz com que a empresa aumente a sua participação no mercado, sua lucratividade e rentabilidade (KOTLER, 2000; PARASURAMAN; COLBY, 2002; FULLER, 2005), além de demonstrar a sua capacidade de inovação.

Uma inovação não necessariamente é baseada em tecnologias revolucionárias (RECCHIA, 2014). Um novo produto pode ter diversos significados: pode ser aquele que nunca foi desenvolvido, um produto que foi desenvolvido, porém nunca foi distribuído em certa área geográfica, um produto que foi reformulado no que se refere à sua embalagem, tamanho ou forma, ou ainda aquele que foi introduzido pela empresa em um novo nicho de mercado (FULLER, 2005). Criar novos produtos que utilizam os subprodutos gerados na indústria pode ser considerado um grande diferencial, pois agrega valor na cadeia e reduz os impactos ambientais (RECCHIA, 2014).

Segundo Keller e Kotler (2006), o processo de DNP consiste em oito estágios (Figura 1.2). O propósito de cada estágio é definir se a ideia deve continuar a ser desenvolvida ou deve ser rejeitada. A indústria deve trabalhar no sentido de minimizar a possibilidade de uma má ideia ser aprovada e de uma boa ideia ser eliminada.

Figura 1.2: Estágios para o desenvolvimento de novos produtos.



As etapas para o DNP são comentadas a seguir (TONI; MILAN; SCHULER, 2005; KELLER; KOTLER, 2006):

1) Geração de ideias: as ideias podem vir de várias fontes, como por exemplo, a identificação de problemas/necessidades e *brainstorming*.
2) Triagem: as ideias precisam ser examinadas cuidadosamente, já que não se pode investir indiscriminadamente em todas elas. Neste estágio a empresa considera as ideias como promissoras, marginais ou rejeitadas, correndo o risco de aceitar uma má ideia, ou de rejeitar uma boa.
3) Desenvolvimento e teste do conceito: as boas ideias precisam ser refinadas para se chegar ao conceito de um produto para que este seja testado. O conceito de um produto está ligado à ideia de como os consumidores percebem o produto. O teste do conceito abrange a apresentação do conceito do produto aos consumidores alvo assim como a captação de sua reação.
4) Desenvolvimento da estratégia de *marketing*: ao lançar um novo produto a empresa deve estabelecer níveis para cada variável de marketing, como por exemplo, preço, promoções, logística de distribuição e qualidade do produto.
5) Desenvolvimento do produto: esta etapa consiste na transformação do conceito em um produto real, em que os profissionais da área mercadológica transmitem para os técnicos responsáveis pelo desenvolvimento do produto, informações sobre quais atributos os consumidores procuram.
6) Teste de mercado: consiste em experimentar o produto em condições normais de uso ou consumo para obter uma melhor estimativa do potencial de vendas.
7) Análise financeira/comercial: a equipe responsável precisa avaliar a atratividade do novo produto no mercado através da previsão de vendas, da projeção de custos e lucros do produto, para verificar se eles satisfazem os objetivos da empresa.
8) Comercialização: o produto está pronto para ser comercializado. Esta etapa consiste na formalização do produto e por isso, é importante que as decisões de quando, onde, para quem e como será vendido estejam bem consolidadas no momento de lançamento no mercado.

De acordo com Keller e Kotler (2006), o fracasso de um novo produto pode ser explicado pela definição incompleta do produto ou do mercado, o mercado foi superestimado, o produto apresentou baixa qualidade ou era economicamente inviável para os compradores.

Tendo como base estes princípios, considera-se promissor o aproveitamento do soro de ricota destinado à elaboração de um suplemento hidroeletrolítico, como descrito no presente trabalho de tese.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIPET – Associação Brasileira da Indústria do PET. **Garrafas – Benefícios da garrafa de PET**, 2010. Disponível em: <http://www.abipet.org.br/index.html?method=mostrarInstitucional&id=48>. Acessado em: 03 jul. 2015.

ABIR – Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas Não Alcoólicas. **Consumo de todas as bebidas comerciais 2005-2010**, 2011. Disponível em: <http://abir.org.br/2011/10/24/dados-de-mercado-2011/>. Acessado em: 15 abr. 2012.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12994**: métodos de análise sensorial de alimentos e bebidas – classificação. Rio de Janeiro, 2p., 1993.

ALBUQUERQUE, L.C. **Queijos no Mundo**: Origem e Tecnologia. Juiz de Fora, v.1, p. 107, 2002.

ALEXANDRE, D.; CUNHA, R.L.; HUBINGER, M.D. Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.24, n.11, p.114-119, 2004.

ALVES, R.M.V.; GARCIA, E.E.C. Embalagem para sucos de frutas. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.2, p.105-122, 1993.

ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING OF MATERIALS. **E2454 Standard.** Standard guide for sensory evaluation methods to determine the sensory shelf life of consumer products. West Conshohocken, PA: American Society for Testing of Materials, 2005.

BALD, J.A.; VINCENZI, A.; GENNARI, A.; LEHN, D.N.; SOUZA, C.F.V. Características físico-químicas de soros de queijo e ricota produzidos no Vale do Taquari, RS. **Revista Jovens Pesquisadores**, Santa Cruz do Sul, v.4, n.1, p.90-99, 2014.

BARACAT, R.S. **Avaliação do processo por embalagem do tipo atmosfera modificada na conservação da carne porcionada**. 2006. 72p. Tese (Doutor em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.

BARANA, A.C.; LIMA, U.A.; WIECHETECK, G.K.; SPOTO, M.H.F. **Água como utilidade na indústria de bebidas**. In Indústria de Bebidas – Inovação, Gestão e Produção. v.3. Cap 1. Ed Blucher. 2011.

BEHRENS, J. **Análise sensorial de bebidas**. In: Indústria de bebidas: inovação, gestão e produção. v.3, 1 ed. São Paulo: Blucher, 2011.

BITELLO, A.R.; VINCENZI, A.; FACCIN, C.; GRÄFF, C.A.; SCHLABITZ, C.; BURLANI, E.L.; WILDNER, C.R.; MACHADO, L.A.P.; RODRIGUES, M.; MACIEL, M.J.; RAFAEL, R.S.; FUNKE, R.L.; SOUZA, C.F.V. Aproveitamento do soro de ricota para produção de diferentes biomoléculas utilizando a *Kluyveromyces marxianus*. **Revista Destaques Acadêmicos**, Lajeado, v.5, n.4, p.209-216, 2013.

BOTTANI, E.; MONTANARI, R.; VIGNALI, G.; GUERRA, L. A survey on packaging materials and Technologies for commercial food products. **International Journal of Food Engineering**, v.7, n.1, p.12, 2011.

BRASIL. Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Seção I, p. 45, 2001.

BRASIL. Resolução nº 216, de 15 de setembro de 2004. Aprova o regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. **Diário Oficial da União**, Seção I, p. 25, 2004.

BRASIL. Resolução nº 18, de 27 de setembro de 2010. Aprovação, regulamento técnico, alimento para praticante de atividade física, atleta profissional, composição dos alimentos, rotulagem, suplemento alimentar. **Diário Oficial da União**, Seção I, p. 211, 2010.

BUCHNER, N. **Aseptic processing and packaging of food particulates**. In: Aseptic processing and packaging of particulates foods. Glasgow: Blackie Academic and Professional, Cap.1, 1993.

BUTT, M. **Properties of beverages in PVC, HDPE and PP bottles**. In Handbook of beverage packing. London: CRC Press, 1999.

CAMARGO, G.A. **Novas tecnologias e pré-tratamentos: tomate seco embalado a vácuo**. 2005. 162p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

CAMILO, A.N. **Tendências**: as novas embalagens de bebidas americanas confirmam tendências. 2010. Disponível em: <http://www.institutodeembalagens.com.br/clippings/tendencias_awp.pdf>. Acessado em: 25 jan. 2015.

CARRO, R. **Ambev e Coca agitam o mercado de isotônicos**. Disponível em: http://brasileconomico.ig.com.br/negocios/2014-09-15/ambev-e-coca-agitam-mercado-de-isotonicos.html. Acessado em 24 jul. 2015.

CASADO, L. **Isotônicos ganham novas embalagens e fórmulas**. Disponível em: <http://www.endurancepartners.com.br/endurance2011/web/conteudo_pti.asp?idioma=0&tipo=39068&conta=45&id=149472>. Acessado em: 28 mar. 2015.

CHÁVEZ, J.E.T. **Utilización del ultrafiltrado de suero pasteurizado del queso para el desarrollo de una bebida isotónica**, 2001. Disponível em: < http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1332/1/T1263.pdf>. Acessado em: 27 jan 2015.

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

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. 3 ed. Curitiba: Champagnat, 2011.

EARLY, R. **Tecnología de los productos lácteos**. Zaragoza: Acribia, 2000.

EMBALAWEB. **PET cada vez mais em forma**. Disponível em: <http://www.embalaweb.com.br/noticias/6020.shtml>. Acessado em: 28 mar. 2015.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. EMBRAPA – Gado de leite. **Produção Brasileira de Queijos – (toneladas)**. [200-]. Disponível em: <http://www.cnpgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/industria/tabela0424.php> Acesso em: 29 ago. 2011.

FARIA, J.A.F. **Vida de prateleira de alimentos processados assepticamente**. In: II Seminário Latino Americano – Avanços em tecnologia para o processamento e envasamento asséptico de alimentos. Campinas, 1993.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos**: Princípios e Prática. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

FERREIRA, V.L.P.; ALMEIDA, T.C.A.; PETTINELLI, M.L.C.V.; SILVA, M.A.A.P.; CHAVES, J.B.P.; BARBOSA, E.M.M. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. 1 ed. Campinas: SBCTA, 2000.

FONTES, E.A.F.; ALVES, Y.P.C.; FONTES, P.R.; MINIM, V.P.R. Bebida eletrolítica a base de permeado da ultrafiltração de leite: avaliação física, química e microbiológica durante o armazenamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.2, p.342-348, 2015.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FULLER, G.W. **New food product development: from concept to marketplace**. Boca Raton: CRC Press, 2005.

GALLAGHER, M.J.S.; MONTEIRO, M.; KOPPER, G. **Embalagens para bebidas**. In Indústria de Bebidas – Inovação, Gestão e Produção. v.3. Cap 1. Ed Blucher. 2011.

GEREMIAS-ANDRADE, I. M. **Estimativa da vida de prateleira de caldo de cana padronizado estocado sob refrigeração**. 2014. 162p. Dissertação (Mestre em Ciências da Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

GERHARDT, A.; MONTEIRO, B.W.; GENNARI, A.; LEHN, D.N.; SOUZA, C.F.V. Características físico-químicas e sensoriais de bebidas lácteas fermentadas utilizando soro de ricota e colágeno hidrolisado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.68, n.390, p.41-50, 2013.

GUPTA, S.; CHATTERJEE,S.; VAISHNAV, J.; KUMAR, V.; VARIYAR, P.S.; SHARMA, A. Hurdle technology for shelf stable minimally processed French beans (*Phaseolus vulgaris*): A response surface methodology approach. **LWT – Food Science and Technology**, Amsterdã, v.48, n.2, p.182-189, 2012.

HARTMANN, J.E.; HEISLER, D.; LEHN, D.N.; SOUZA, C.F.V. Desenvolvimento de sobremesa láctea sabor chocolate elaborada com soro de ricota. **Anais do VI CETEC**, Lajeado, p.106-112, 2013.

HOLDSWORTH, S. D. **Aseptic processing and packaging of food products**. New York: Elsevier Science Publisher Ltda. Cap. 9, p. 335 -375, 1992.

ISO 14644-1. Cleanrooms and associated controlled environments – Part 1: Classification of air cleanliness. **International Organization for Standardization**, Geneva, Switzerland, 2001.

JOHANSEN, A.G.; VEGARUD, G.E.; SKEIE, S. Seasonal and regional variation in the composition of whey from Norwegian Cheddar-type and Dutch-type cheeses. **International Dairy Journal**, Barking, v.12, n.7, p.621-629, 2002.

JOYCE, D.A. **Microbiological aspects of aseptic processing and packaging**. In: WHILLHOFT, E.M.A. Aseptic processing and packaging of particulate foods. London: Campman & Hall, 1993.

KELLER, K.L.; KOTLER, P. **Administração de *marketing***. 12 ed. São Paulo: Prentice Hall Brasil, 2006.

KLAUS, J.S. Soluções para o projeto de salas limpas na indústria de alimentos. **Revista da Sociedade Brasileira de Controle de Contaminação (SBCC)**, São José dos Campos, n.8, p.14-16, 2002.

KOTLER, P. **Administração de *marketing***. 10 ed. São Paulo: Prentice Hall, 2000.

KRONES NEWS. **Enchimento asséptico a frio**: uma tendência. 2008. Disponível em: <http://www.krones.com.br/Boletim/Edicao73/materia7.htm>. Acessado em: 26 jan. 2015.

LANDRY, W.L.; SCHWAB, A.H.; LANCETTE, G.A. Examination of Canned Food, Capítulo 21A. In: U.S. Food and Drug Administration (FDA), **Bacteriological Analytical Manual Online**. 2001. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm109398.htm>. Acessado em: 28 jan. 2015.

LEISTNER, L. **Principles and applications of hurdle technology**. New Methods for Food Preservation, Blackie Academic and Professional, London, p.1–21, 1995.

LEISTNER, L. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdã, v.55, n.1-3, p.181-186, 2000.

LEISTNER, L; GORRIS, L.G.M. Food preservation by hurdle technology, **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v.6, n.2, p.41-46, 1995.

LÓPEZ- GÓMES, A. **Food safety engineering and ultraclean and aseptic processing and packaging**. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE INNOVACIÓN E DESARROLO DE ALIMENTOS, 6, 2013. Anais. Montevideo, Uruguay, 2013.

LÓPEZ- GOMES, A.; ROS-CHUMILLAS, M.; BELISARIO-SÁNCHEZ, Y.Y. **Packaging and the shelf life of orange juice**. In Food packaging and shelf life: a practical guide. Cap 10. New York: CRC Press LLC, 2010.

MARTINS, T.R. **Métodos de conservação de alimentos**. 2008. Disponível em: <http://aprender.unoeste.br/moodle/mod/forum/discuss.php?d=4088>. Acessado em: 28 jan. 2015.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. 3 ed. New York: CRC Press, 1999.

MONTEIRO, M; DE MARCHI, R. **Bebidas isotônicas.** In Bebidas não alcoólicas – Ciência e Tecnologia. Cap5. Ed Blucher. 2010.

OLIVEIRA, S.A. **Desenvolvimento de bebida láctea não fermentada com soro de leite ácido**. 2011. 37p. TCC (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2011.

ORDÓÑEZ, J.A. et al. **Tecnologia de Alimentos – Alimentos de origen animal**. v.2. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PARASURAMAN, A.; COLBY, C.L. ***Marketing* para produtos inovadores**. Porto Alegre: Bookman, 2002.

PETRUS, R.R. **Desenvolvimento de processo e avaliação de estabilidade de bebida isotônica acondicionada em garrafa plástica asséptica**. 2000. 122p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

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

PETRUS, R.R.; FARIA, J.A.F. Processamento e avaliação de estabilidade de bebida isotônica em garrafa plástica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.3, p.518-524, 2005.

RAMOS, T.M. **Produção de xarope de lactulose a partir de soro de ricota e seu emprego em iogurte e queijo quark**. 2010. 99p. Dissertação (Mestre em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

RECCHIA, B.R.G. **Desenvolvimento de bebida láctea fermentada a base de soro lácteo ácido: caracterização físico-química e reológica**. 2014. 99p. Dissertação (Mestre em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

RODRIGUES, F. **Ricota**. 2010. Disponível em: <www.queijosnobrasil.com.br/fabricar-ricota.html>. Acessado em: 26 jan. 2015.

SANSONETTI, S.; CURCIO, S.; CALABRÒ, V.; IORIO, G. Bio-ethanol production by fermentation of ricotta cheese whey as an effective alternative non-vegetable source. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v.33, n.12, p.1687-1692, 2009.

SANSONETTI, S.; CURCIO, S.; CALABRÒ, V.; IORIO, G. Optimization of ricotta cheese whey (RCW) fermentation by response surface methodology. **Bioresource Technology**, Essex, v.101, n.23, p.9156-9162, 2010.

SANSONETTI, S.; HOBLEY, T.J.; CALABRÒ, V.; VILLADSEN, J.; SIN, G. A biochemically structured model for ethanol fermentation by *Kluyveromyces marxianus*: A batch fermentation and kinetic study. **Bioresource Technology**, Essex, v.102, n.16, p.7513-7520, 2011.

SARACENO, A.; SANSONETTI, S.; CALABRÒ, V.; IORIO, G.; CURCIO, S. A comparison between different modeling techniques for the production of bio-ethanol from dairy industry wastes. **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, Zagreb, v.25, n.4, p461-469, 2011.

SARAIVA, C.B.; MENDONÇA, R.C.S.; SANTOS, A.L.; PEREIRA, D.A. Consumo de água e geração de efluentes em uma indústria de laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.64, n.367/368, p.10-18, 2009.

SARON, M.L.G. **Aproveitamento do permeado de soro de leite bovino através da transformação da lactose em lactulose e como ingrediente para meios de cultura e bactérias probióticas**. 2003. 107p. Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

SCHLABITZ, C. **Aplicação de soro de ricota na elaboração de bebida láctea fermentada funcional**. 2014. 144p. Dissertação (Mestre em Biotecnologia) – Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, 2014.

SHAPTON, D.A.; SHAPTON, N.F. **Principles and practices for the safe processing foods**. Oxford: Heinz, 1991.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. São Paulo: Varela, 4ª ed. 2010.

SINGH, R.P.; ANDERSON, B.A. In: STEELE, R (Ed.). **Understanding and measuring the shelf-life of food**. Boca Raton, USA: CRC Press, cap. 1, 2004.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 3 ed. London: Academic Press, 2004.

TEBALDI, V.M.R. **Elaboração de bebida láctea de soro de ricota e extrato solúvel de soja**. 2005. 92p. Dissertação (Mestre em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

TEIXEIRA, L.V.; FONSECA, L.M. Perfil físico-químico do soro de queijos mozarela e minas-padrão produzidos em várias regiões do estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.60, n.1, p.243-250, 2008.

TONI, D.; MILAN, G.S.; SCHULER, M. O desenvolvimento de novos produtos: um estudo exploratório ambientado em empresas de acessórios plásticos para móveis. **Revista Produção**, Florianópolis, v.5, n.2, 2005.

USDA/FAS. **Annual Dairy Report: Brazi**l. In United States Department of Agriculture (USDA)/ Foreign Agricultural Service (FAS). 2013. Disponível em: <http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Dairy%20and%20Products%20Annual_Brasilia_Brazil_10-16-2013.pdf>. Acessado em 26 jan. 2015.

VIGNALI, G.; MANFREDI, M. Comparative life cycle assessment of hot filling and aseptic packaging systems used for beverages. **Journal of Food Engineering**, Essex, v.147, p.39-48, 2015.

WALSTRA, P.; GEURTS, T.J.; NOOMEN, A.; JELLEMA, A; van BOEKEL,M.A.J.S. **Ciencia de la Leche y Tecnología de los Productos Lácteos**. Zaragoza: Acribia, p. 730, 2001.

WORDON, B.A.; MORTIMER, B.; MCMASTER, L.D. Comparative real-time analysis of Saccharomyces cerevisiae cell viability, injury and death induced by ultrasound (20 kHz) and heat for the application of hurdle technology. **Food Research International**, Barking, v.47, n.2, p.134-139, 2012.

ZOCCAL, R. **Produção de leite, vacas ordenhadas e produtividade animal no Brasil – 1980/2010***. EMBRAPA – Gado de leite, 2011. Disponível em: <http://www.cnpgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/tabela0230.php >. Acesso em: 29 ago. 2011.

ZOPPELLARI, F; BARDI, L. Production of bioethanol from effluents of the dairy industry by *Kluyveromyces marxianus*. **New Biotechnology**, Amsterdã, v.30, n.6, p.607-613, 2013.

ZUÑIGA, A.D.G. **Estratégia de purificação das proteínas α-lactoalbumina e β-lactoglobulina de soro de queijo**. 2003. 155p. Tese (Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

Capítulo 2

DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO HIDROELETROLÍTICA A PARTIR DO SORO DE RICOTA

RESUMO

O soro de ricota é um subproduto da indústria de laticínios, usualmente descartado ou destinado à alimentação animal. O presente estudo visou o aproveitamento do soro de ricota para o desenvolvimento de uma bebida isotônica. Adicionou-se lactase ao soro, e este foi mantido a 8 °C por 24 horas para atuação da enzima. O soro pré-tratado foi pasteurizado a 75 °C/15 s, acondicionado assepticamente em garrafas de polietileno de alta densidade (PEAD), previamente higienizadas, e estocado a 0 °C. O soro pasteurizado foi utilizado como base para o desenvolvimento da formulação isotônica. Para a escolha do sabor da bebida foram realizados testes de Ordenação-Preferência com sete sabores produzidos pela marca líder de mercado de isotônicos no Brasil. Em seguida, diversas formulações foram desenvolvidas, em que a quantidade de ingredientes e aditivos (soro de ricota, água deionizada, corante, aroma, ácido cítrico, sacarose e cloreto de sódio) era alterada de acordo com a preferência dos provadores e conforme os resultados obtidos no teste de Escala do Ideal. Neste teste, avaliaram-se a cor, o odor e os gostos doce, salgado e ácido. Testes de Escala Hedônica de 9 pontos foram aplicados simultaneamente. Mediram-se o valor de pH, o teor de sólidos solúveis, a osmolalidade e os teores de sódio e potássio das amostras. O sabor de tangerina foi o preferido pelos provadores ($p > 0,1$) sendo o escolhido para o desenvolvimento da formulação isotônica. Após a realização de dez sessões de análise sensorial ao longo de oito meses, juntamente com os testes físico-químicos, obteve-se uma formulação isotônica aceita pelos provadores (média de notas de 6,3 e porcentagem de aceitação de 82%). Os resultados dos testes físico-químicos adequaram-se aos requisitos estabelecidos pela Legislação Alimentar Brasileira, com pH 3,15, teor de sólidos solúveis de 6,4 °Brix, osmolalidade de 306 mOsm/kg água, 500 mg/L de sódio e 650 mg/L de potássio. O soro de ricota revelou-se uma alternativa tecnologicamente viável para elaboração de uma bebida isotônica permitindo o aproveitamento e a agregação de valor ao referido subproduto.

Palavras-chave: desenvolvimento de produto, aproveitamento de subproduto.

ABSTRACT

The ricotta cheese whey (RCW) is a by-product of the dairy industry, usually discarded or used for animal feed. This study focused the use of RCW to develop an isotonic drink. Lactase was added to the RCW and kept at 8 °C for 24 hours for enzymatic activity. Then, the RCW was pasteurized at 75 °C/15 s, aseptically filled into high density polyethylene (HDPE) bottles, previously sanitized, and stored at 0 °C. Pasteurized RCW was used as the basis for the development of the isotonic formulation. To select the beverage flavor, Rank Preferences tests with seven flavors produced by the leading brand of isotonic drinks in Brazilian market were performed. About ten formulations were developed, wherein the amount of ingredients and additives (RCW, deionized water, coloring, aroma, citric acid, sucrose and sodium chloride) was changed according to the preference of the panelists and the results obtained in the Just-About-Right Scale tests. The attributes of color, aroma, sweetness, savory and sour tastes were all evaluated. Nine-point Hedonic Scale tests were simultaneously applied. The pH value, soluble solids content, the osmolality and sodium and potassium contents of the samples were measured. Tangerine flavor was preferred by panelists ($p > 0.1$); it was chosen to the development of the isotonic formulation. After ten sensory analysis sessions and physicochemical tests, a sports drink formulation accepted by the sensory panel (mean score of 6.3) was achieved. The developed sports drink met the identity standards established by Brazilian current Food Regulation,,with a pH 3.15, 6.4 °Brix, 306 mOsm/kg água, (500 and 650) mg/L sodium and potassium, respectively. The findings indicate that RCW could be a technologically feasible alternative to produce a sports drink.

Keywords: product development, by-product.

2.1 INTRODUÇÃO

O mercado consumidor tem apresentado uma crescente demanda por novos produtos alimentícios, reduzindo a sua fidelidade às marcas tradicionalmente consumidas. Este fato torna o mercado de alimentos mais competitivo, diminuindo o ciclo de vida dos produtos lançados. Isso tem feito com que as empresas trabalhem com uma maior agilidade e eficiência no desenvolvimento de novos produtos (WILLE, 2004, MONTEIRO; MARTINS, 2005).

O desenvolvimento de novos produtos envolve atividades fundamentais, como modificações de formulação ou substituição de matéria-prima, das quais resultarão produtos diferentes pelas alterações realizadas (WILLE, 2004).

Segundo Porter e Linde (1995), o aproveitamento de subprodutos pode aumentar a produtividade de uma empresa, transformando subprodutos industriais em produtos com considerável valor agregado e reduzindo ou eliminando os custos envolvidos com tratamento de efluentes.

A ricota é um produto largamente utilizado na culinária, obtida através da floculação das proteínas do soro de queijo associado à acidificação. De acordo com Albuquerque (2002), o seu rendimento situa-se em torno de 4 a 5 % em relação ao volume de soro processado. Com base nos dados mais atuais de produção de ricota [Embrapa, 200-] encontrados na literatura (ano de 2004) e de produção anual brasileira de leite nos anos de 2004 (ZOCCAL, 2011) e 2014 (estimativa de produção) (USDA/FAS, 2013), calcula-se que em 2014 foram produzidas quase 230 mil toneladas de soro de ricota. Sansonetti et al. (2009) e Saraceno et al. (2011) afirmam que na região da Itália e Mediterrâneo são produzidos aproximadamente um milhão de toneladas do soro de ricota por ano, gerando problemas relacionados ao seu descarte. Sansonetti e colaboradores (2009) afirmam que o soro de ricota é composto por 0,15 a 0,22% de proteínas, 4,8 a 5,0% de lactose, 1,0 a 1,3% de sais minerais e 0,20 a 0,25% de ácidos orgânicos.

Os suplementos hidroeletrolíticos, conhecidos popularmente como bebidas isotônicas ou isotônicos, são formulados especialmente para atletas e pessoas que praticam exercícios físicos intensos por mais de uma hora (MONTEIRO; DE MARCHI, 2010) e tem como objetivo a reposição hídrica e eletrolítica.

De acordo com a Resolução n° 18, de 27 de abril de 2010 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2010), um suplemento hidroeletrolítico deve atender aos seguintes padrões de identidade:

- A concentração de sódio no produto pronto para consumo deve situar-se entre 460 e 1150 mg/L, devendo ser utilizados sais inorgânicos para fins alimentícios como fonte de sódio.
- A osmolalidade do produto pronto para consumo deve situar-se entre 270 e 330 mOsm/kg água.
- Os carboidratos podem constituir até 8% (m/v) do produto pronto para consumo (quanto ao teor de frutose, quando adicionada, não pode ser superior a 3% (m/v) do produto pronto pra consumo).
- O produto pode ser adicionado de vitaminas e minerais, conforme regulamento técnico específico sobre adição de nutrientes essenciais.
- O produto pode ser adicionado de potássio em até 700 mg/L.
- O produto não pode ser adicionado de outros nutrientes e não nutrientes.
- O produto não pode ser adicionado de fibras alimentares, amidos e polióis.

De acordo com Monteiro e De Marchi (2010), a osmolalidade de uma bebida isotônica situa-se em torno de 300 mOsm/kg água, que é próxima à do sangue, favorecendo a absorção de água e de eletrólitos perdidos na transpiração. Bebidas com 6 a 8% de carboidratos em sua composição melhoram o desempenho do atleta e entram mais rapidamente na corrente sanguínea que a água, reduzindo o tempo de esvaziamento gástrico, contribuindo para uma hidratação mais rápida. Os carboidratos mais utilizados são glicose, maltodextrina e sacarose.

Os acidulantes intensificam o sabor da bebida e ajudam na sua conservação, já que reduzem o pH e consequentemente diminuem o desenvolvimento microbiano, sendo o ácido cítrico o mais utilizado. Algumas marcas optam por utilizar conservadores químicos, que impedem ou retardam as alterações provocadas por micro-organismos. Os corantes e aromatizantes são utilizados para conferir ou intensificar a cor, sabor e/ou aroma (MONTEIRO, DE MARCHI, 2010).

2.2 OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo consistiu no desenvolvimento de um suplemento hidroeletrolítico, a partir do soro de ricota, em conformidade com os padrões de identidade estabelecidos pela Legislação Alimentar vigente.

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1 Definição do sabor da bebida isotônica

Para identificar o sabor que mais agradasse ao provador, um teste de Ordenação-Preferência foi conduzido no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Engenharia de Alimentos da Faculdade de Zootecnia de Engenharia de Alimentos (FZEA/USP). Os testes sensoriais aplicados seguiram os procedimentos descritos por Stone e Sidel (2004). Foram recrutados 60 consumidores regulares de isotônicos, sendo estes, alunos de graduação, pós-graduação e funcionários da FZEA, com faixa etária compreendida entre 17 e 50 anos.

Cada avaliador provou sete amostras (codificadas com três dígitos) de isotônico com diferentes sabores, a citar: uva, maracujá, morango com maracujá, laranja, limão, tangerina e frutas cítricas. Para este fim, optou-se pela aquisição de amostras da marca líder no mercado nacional de isotônicos.

A apresentação das amostras aos provadores seguiu um delineamento de blocos completos aleatorizados, ou seja, as amostras foram apresentadas em ordens diferentes para cada julgador.

Cada provador recebeu as sete amostras simultaneamente, com aproximadamente 30 mL cada, servidas a 4 °C. Além das amostras foram servidos um copo de água e uma bolacha água e sal, para neutralizar o sabor da bebida anteriormente provada, e uma ficha de avaliação (Apêndice A).

A execução dos testes sensoriais foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FZEA/USP (Parecer n° 359.879).

2.3.2 Produção da ricota

Foram fornecidos pelo Laticínio Escola do *campus* da USP de Pirassununga 76 L de soro de queijo (Figura 2.1 A), provenientes da produção de queijo minas frescal. Para obtenção do soro de ricota, mediu-se a acidez titulável do soro de leite, utilizando o método Dornic (BRASIL, 2006) e encontrou-se o valor de 11 °D (0,11% de ácido lático). Albuquerque (2003) recomenda que a acidez do soro seja reduzida para 8 °D para que a desnaturação das soroproteínas não ocorra antes da adição da solução do ácido lático. Para reduzir a acidez, adicionaram-se ao soro de queijo 21,27 g de bicarbonato de sódio, de acordo com a Equação 2.1, antes do início do aquecimento do soro.

$$\text{Massa de bicarbonato de sódio(g)} = \text{volume do soro(L)} \times \text{°D a reduzir} \times 0{,}0933 \quad \text{(Eq 2.1)}$$

Fez-se um aquecimento lento do soro (1 °C a cada 1 minuto), em tanque de aço inoxidável encamisado, até que a temperatura atingisse 85 °C (Figura 2.1 B). Em seguida, adicionou-se uma solução diluída (1:10) de ácido lático 85% (v/v) (LabSynth, Diadema, Brasil) na proporção de 100 mL de solução para cada 100 L de soro de queijo e aqueceu-se o soro até 90 °C. Por serem sensíveis ao calor em meio ácido, as proteínas do soro se desnaturaram (começaram a flocular) (ALBUQUERQUE, 2003) e o aquecimento foi interrompido (Figura 2.1 C).

Em seguida, a mistura (soro e ricota) foi resfriada a 30 °C pois, nesta temperatura, as soroproteínas estão mais firmes, facilitando a retirada destas do tanque, sendo também uma temperatura ideal para que a enzima lactase pudesse ser adicionada ao soro, evitando a sua desnaturação térmica.

As soroproteínas desnaturadas (ricota) foram retiradas do meio e o soro de ricota resfriado (Figura 2.1 D), ao qual foi adicionado lactase Granolact M 7500 (Granolab, Curitiba, Brasil) na proporção de 1,05 g de enzima para cada litro de soro. O soro de ricota adicionado de enzima foi estocado por 24 horas a 8 °C, garantindo nestas condições de armazenamento uma porcentagem de hidrólise da lactose superior a 95.

A adição de lactase (β-D-galactoside galactohydrolase / EC 3.2.1.23) objetivou a hidrólise da lactose em glicose e galactose, monossacarídeos com poder edulcorante superior à lactose (SRINIVASAN; PARKIN; FENNEMA, 2010), sem elevar o valor calórico da bebida. É oportuno considerar que os suplementos hidroeletrolíticos apresentam gosto levemente salgado, em virtude da presença de eletrólitos, o que pode ser atenuado pelo aumento do poder edulcorante dos carboidratos disponíveis no produto. Ademais, a adição de lactase favorece o consumo da bebida por indivíduos intolerantes à lactose.

Figura 2.1: Imagens do processo de obtenção do soro de ricota. (A) soro de queijo minas frescal; (B) soro de queijo adicionado de ácido lático (85 °C); (C) soroproteínas desnaturadas (ricota); (D) soro de ricota.

2.3.3 Processamento do soro de ricota

Após o tratamento enzimático, o soro de ricota foi pasteurizado a 75 °C/15 s e imediatamente resfriado a 10 °C, aproximadamente, em trocador de calor a placas elétrico (Sumá Indústria e Comércio Ltda, Campinas, Brasil), com vazão nominal de 300 L/h, equipado com válvula pneumática de retorno de produto não pasteurizado.

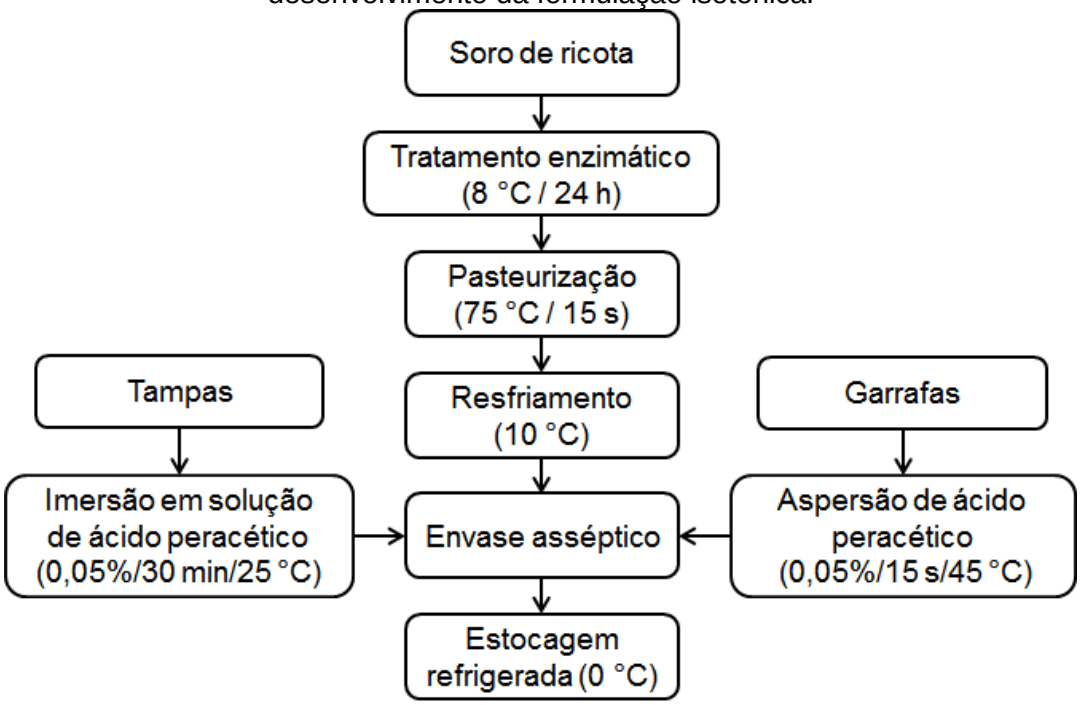
O soro pasteurizado foi acondicionado assepticamente em garrafas de polietileno de alta densidade (PEAD) com capacidade para 400 mL (Usicomp, Santa Bárbara d'Oeste, Brasil), previamente higienizadas. As embalagens foram descontaminadas por aspersão de solução de ácido peracético (Thech Desinfecção Ltda, São Paulo, Brasil) (0,05% (v/v)/15 s/45 °C).

O envase, a 12 °C, aproximadamente, foi realizado utilizando-se uma dosadora gravimétrica semiautomática (Polienva-Movitron, São Paulo, Brasil), instalada no interior de uma cabina de fluxo de ar unidirecional (ISO classe 5) horizontal, de fabricação Veco do Brasil, Campinas, Brasil.

Após o envase, o lote foi estocado a 0 °C, na ausência de luz, com o objetivo de preservar a qualidade do soro durante o período de tempo necessário para desenvolvimento da formulação da bebida isotônica, que se estendeu por 8 meses. O

processamento do soro de ricota (Figura 2.2) foi realizado na Planta Piloto do Departamento de Engenharia de Alimentos da USP, no *campus* de Pirassununga/SP.

Figura 2.2: Fluxograma de processamento do soro da ricota destinado ao desenvolvimento da formulação isotônica.



2.3.4 Análise microbiológica do soro de ricota

Com a finalidade de avaliar a estabilidade microbiológica do soro pasteurizado estocado a 0 °C, procederam-se às contagens de mesófilos aeróbios totais, de acordo com a metodologia descrita por Silva e colaboradores (2010). Adicionou-se 1 mL de soro de ricota em uma placa de petri e em seguida, ágar para contagem padrão em placas (PCA) (Oxoid, Basingstoke, Reino Unido). As placas foram incubadas a 37 °C por 48 horas.

As análises microbiológicas foram realizadas antes do preparo das formulações destinadas aos testes sensoriais, em triplicata, no Laboratório de Bioprocessos do Departamento de Engenharia de Alimentos da FZEA/USP.

2.3.5 Desenvolvimento da formulação

Após o processamento do soro de ricota, foram realizados testes físico-químicos de acordo com a metodologia da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2012). Analisaram-se os teores de sódio e potássio em fotômetro de chama Micronal modelo B462 (São Paulo, Brasil) (Laboratório de Minerais (USP/FZEA)), o

teor de sólidos solúveis em refratômetro portátil digital (Reichert modelo AR 200), o pH (pHmetro Analyser modelo 300 M) e a osmolalidade em osmômetro PLZ Tecnologia modelo PLZ 1000 (Londrina, Brasil). A partir dos resultados obtidos, desenvolveram-se diversas formulações visando ao ajuste de seu valor osmótico e de seus teores de sódio e potássio. Para este fim, variou-se a concentração dos ingredientes e dos aditivos (soro de ricota, água deionizada, cloreto de sódio, ácido cítrico, sacarose, aroma de tangerina e corante amarelo crepúsculo). Além das análises físico-químicas, testes sensoriais também nortearam o desenvolvimento da formulação.

2.3.5.1 Análise sensorial da bebida formulada

Para o desenvolvimento da formulação da bebida isotônica, foram aplicados testes de Escala do Ideal e testes de Escala Hedônica de nove pontos, conforme os procedimentos descritos por Meilgaard, Civille e Carr (1999) e Ferreira e colaboradores (2000). Os testes foram conduzidos no Laboratório de Análise Sensorial (FZEA/USP), tendo sido recrutados 60 provadores não treinados para cada sessão, sendo estes, alunos de graduação, pós-graduação e funcionários da FZEA, com faixa etária compreendida entre 17 e 50 anos.

Cada provador recebeu aproximadamente 30 mL da bebida servida a 4 °C, um copo de água e uma ficha de avaliação (Apêndice B).

2.3.5.2 Análises físico-químicas da bebida formulada

As análises físico-químicas do isotônico foram realizadas conforme descrito no item 2.3.5, em triplicata. Adicionalmente, fez-se o teste de acidez titulável que foi determinada utilizando-se NaOH 0,1 M, sendo o ponto de viragem aquele o qual o pH atingiu o valor de 8,3 (AOAC, 2012).

2.3.6 Análise estatística dos resultados

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, com 95% de confiança, para comparação entre as médias obtidas na contagem de bactérias mesófilas durante o período de estocagem do soro de ricota (8 meses). Os dados foram analisados por meio do programa SAS 9.2.

Para o teste sensorial de Ordenação-preferência, utilizou-se uma tabela com significância de 10% (CHRISTENSEN et al., 2006) (ANEXO 1).

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Definição do sabor da bebida isotônica

Os resultados obtidos no teste de Ordenação-Preferência, expressos como somatórios das notas atribuídas a cada sabor estão dispostos no Tabela 2.1, de acordo com a ordenação feita pelo provador. Aos sabores mais e menos preferidos foram atribuídas as notas 1 e 7, respectivamente.

Tabela 2.1: Resultados do teste de Ordenação-Preferência para definição do sabor do isotônico desenvolvido a partir de soro de ricota.

Provador	Sabor						
	Laranja	Maracujá	Tangerina	Frutas cítricas	Morango com maracujá	Uva	Limão
1	2	4	1	5	7	3	6
2	3	5	2	4	1	6	7
...				...			
58	6	5	2	7	1	3	4
59	3	2	5	7	6	4	1
60	5	3	4	6	7	1	2
Σ	**228[a]**	**215[a]**	**208[a]**	**279[b]**	**247[a]**	**228[a]**	**275[b]**

Somatórios seguidos por uma mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p > 0,10$).

Na avaliação dos resultados utilizou-se a tabela para análise estatística para o teste de Ordenação com significância de 10% (CHRISTENSEN et al., 2006) (ANEXO 1), cuja diferença mínima significativa entre as amostras é de 64 pontos. Desta maneira, os sabores tangerina, maracujá, laranja, morango com maracujá e uva, foram considerados estatisticamente os mais preferidos, rejeitando-se, portanto, os sabores limão e frutas cítricas (Tabela 2.1).

Como restaram cinco sabores (laranja, maracujá, tangerina, morango com maracujá e uva), realizou-se um novo teste de Ordenação-Preferência com 65 provadores. A tabela (ANEXO 1) com nível de 10% de significância (CHRISTENSEN et al., 2006) indica que a diferença mínima significativa entre as amostras é de 42 pontos. A Tabela 2.2 apresenta os resultados obtidos na realização do novo teste.

Tabela 2.2: Resultados do segundo teste de Ordenação-Preferência para definição do sabor do isotônico desenvolvido a partir de soro de ricota.

Provador	Sabor				
	Uva	Laranja	Maracujá	Morango com maracujá	Tangerina
1	4	2	5	3	1
2	5	3	2	4	1
...			...		
63	5	2	1	4	3
64	4	3	5	2	1
65	2	1	5	4	3
Σ	**225[b]**	**226[b]**	**192[ab]**	**170[a]**	**162[a]**

Somatórios seguidos por uma mesma letra não diferem estatisticamente entre si ($p > 0,10$).

A Tabela 2.2 mostra que após a segunda análise de Ordenação-preferência, os sabores maracujá, morango com maracujá e tangerina foram os preferidos. Contudo, optou-se pelo sabor tangerina para o desenvolvimento da bebida, já que, de acordo com a Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e Bebidas Não Alcoólicas (ABIR, 2011), tangerina figura entre os dois sabores de isotônico mais apreciados dentre aqueles comercializados pela marca líder do mercado nacional. Segundo pesquisa realizada por Marins e Ferreira (2005) e Brito e Marins (2005), o sabor tangerina da bebida isotônica foi o preferido entre 200 atletas universitários e 220 judocas, respectivamente. Ambos os estudos foram realizados no Estado de Minas Gerais.

2.4.2 Processamento do soro de ricota

Ao final do processamento obtiveram-se 126 garrafas com capacidade para 400 mL cada, totalizando 50,4 L de soro de ricota, estocado a 0 °C. Os resultados obtidos na caracterização físico-química do soro de ricota previamente tratado com lactase e recém-pasteurizado estão apresentados na Tabela 2.3.

Tabela 2.3: Resultados das análises físico-químicas do soro de ricota tratado com lactase e pasteurizado.

Parâmetro	Presente pesquisa	Fontes et al. (2015)
pH	5,71 ± 0,06	6,58 ± 0,07
Acidez titulável (% (m/v) de ácido lático)	0,053 ± 0,001	-
Teor de sólidos solúveis (°Brix)	6,97 ± 0,06	-
Osmolalidade (mOsm/kg água)	436,9 ± 0,6	212,1 ± 0,4
Teor de sódio (mg/L)	800	374,4 ± 0,9
Teor de potássio (mg/L)	1700	763,5 ± 2,1

Os resultados representam as médias de três amostras (com exceção dos teores de sódio e potássio) seguidas pelo desvio padrão.
- Dados indisponíveis.

De acordo com a Tabela 2.3, pode-se perceber que a média dos valores de pH obtidos nesta pesquisa foi inferior àquela determinada por Fontes et al. (2015), porém semelhantes à Bald et al. (2014) cujos valores situaram-se em torno de 5,37. Em contra partida, os valores para osmolalidade, teores de sódio e de potássio foram consideravelmente superiores (mais que o dobro). Sansonetti et al. (2010), Bald et al. (2013) e Bald et al. (2014) encontraram 4,8 a 5,0% (m/v), 2,3 a 6,5% (m/v) e 3,81 a 4,52% (m/v) de lactose no soro de ricota, respectivamente. Tais variações podem ser ocasionadas por diferentes tipos de queijos fabricados, tipo de alimentação do gado leiteiro e a forma de obtenção do soro de ricota. Destaca-se que Fontes et al. (2015) obtiveram o soro por meio da ultrafiltração do leite; Sansonetti et al. (2010), Bald et al. (2013), Bald et al. (2014) e a presente pesquisa utilizaram acidificação sob aquecimento, resultando em soros com características diferentes.

2.4.3 Desenvolvimento da formulação

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2010) estabelece uma série de normas para que uma bebida seja considerada um suplemento hidroeletrolítico. O teor de potássio encontrado no soro (1700 mg/L) superou o limite máximo estabelecido (700 mg/L). De forma análoga, a osmolalidade do soro (436,9 mOsm/kg água) também ultrapassou o limite superior definido por meio do padrão de identidade fixado para isotônicos (330 mOsm/kg água), o que indicou a necessidade de diluição do soro com água deionizada. Ao fazer a diluição, identificou-se a necessidade de adição de sódio, para que o teor mínimo exigido pela Legislação (460 mg/L) fosse satisfeito. A reposição de sódio se deu através da adição de cloreto de sódio.

Uma formulação inicial (Tabela 2.4, coluna 2) foi desenvolvida aplicando-se o teste sensorial denominado Escala do Ideal juntamente com o teste de Escala

Hedônica (Apêndice B), para verificar o quão próximo do ideal a cor laranja, o sabor e odor de tangerina, a acidez, a doçura e o gosto salgado encontravam-se, de acordo com a opinião de cada julgador. Testes físico-químicos foram realizados concomitantemente às sessões de análise sensorial.

Com base nos resultados obtidos neste primeiro teste, uma nova formulação foi desenvolvida, alterando a quantidade de insumos adicionada com base nas respostas dos provadores.

Ao longo do desenvolvimento da formulação, que se estendeu por oito meses, realizaram-se dez sessões de análises sensoriais, com Escalas do Ideal e Hedônica.

As respostas obtidas nos testes sensoriais e físico-químicos (Tabela 2.4) nortearam o desenvolvimento de um suplemento palatável, alcançando uma média de notas equivalente a 6,3 (situada entre “gostei ligeiramente e gostei moderadamente”) na Escala Hedônica de nove pontos (Apêndice B); e sobretudo, em conformidade com os padrões de identidade fixados pela Legislação vigente.

Tabela 2.4: Composição das formulações preparadas nos diferentes estágios de desenvolvimento do isotônico com soro de ricota.

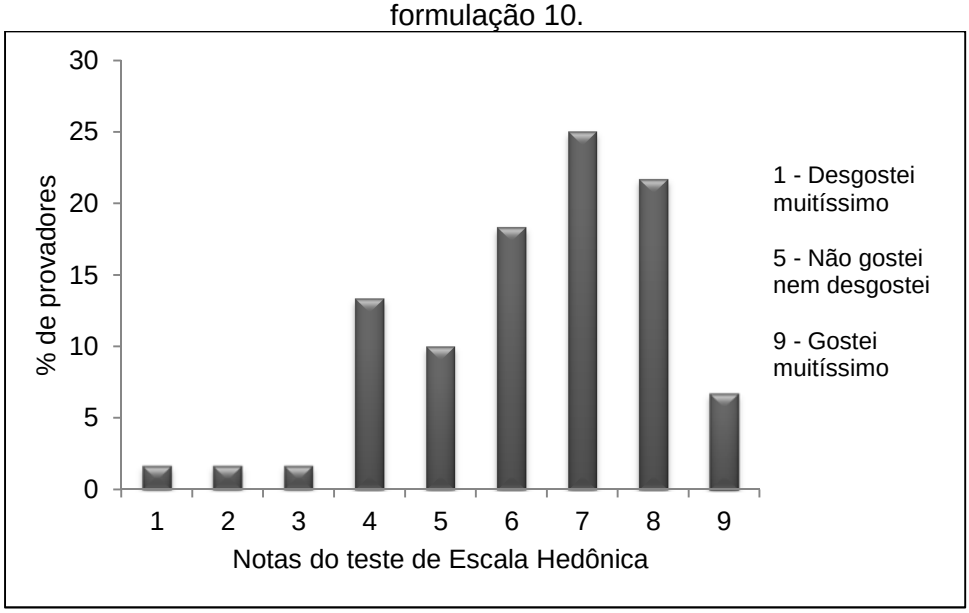
Ingredientes e aditivos	Formulação									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Água deionizada (mL)	705,9	705,9	705,9	705,9	736	736	647	617,2	647	617,2
Soro de ricota (mL)	294,1	294,1	294,1	294,1	264	264	353	382,8	353	382,8
Cloreto de sódio (g)	1,221	1,221	0,961	0,961	1,023	0,922	0,842	0,784	0,842	0,784
Ácido cítrico (g)	1,76	2,72	1,94	3,09	2,96	2,96	5,4	5,4	3,3	3,2
Sacarose (g)	49,3	47,9	53,9	51,9	58,6	58,4	40	32	39,8	36,2
Aroma de tangerina (mL)	1,8	1,92	2	2,1	2,2	2,44	2,44	2,44	2,6	2,6
Corante amarelo crepúsculo (10^{-2} g)	1,15	1,2	1,2	1,24	1,24	1,26	1,26	1,29	1,3	1,3
Resultados das análises físico-químicas (média ± desvio padrão)										
Osmolalidade (mOsm/kg água)	-	-	338 ± 0,5	-	346 ± 0,9	-	-	-	319 ± 1,0	306 ± 0,6
pH	3,52 ± 0,01	3,01 ± 0,01	3,32 ± 0,02	3,14 ± 0,03	3,02 ± 0,01	2,98 ± 0,01	3,05 ± 0,01	3,10 ± 0,01	3,16 ± 0,00	3,15 ± 0,01
Sólidos solúveis (°Brix)	6,87 ± 0,06	7,10 ± 0,00	7,43 ± 0,06	7,60 ± 0,00	7,60 ± 0,10	7,80 ± 0,00	7,03 ± 0,06	6,37 ± 0,06	6,77 ± 0,06	6,40 ± 0,00
Médias obtidas no teste de Escala Hedônica de nove pontos										
Notas (média ± desvio padrão)	5,63 ± 1,94	5,53 ± 2,02	6,47 ± 1,47	7,25 ± 1,24	7,38 ± 1,24	6,95 ± 1,60	5,64 ± 1,68	5,56 ± 1,72	6,85 ± 1,49	6,32 ± 1,77
Porcentagem de aceitação (%)[1]	73,3	70,0	90,0	95,0	96,7	86,7	85,0	85,0	90,0	81,7

- Indisponível.

[1] Porcentagens de notas superiores ou iguais a 5.

A Figura 2.3 apresenta a frequência de notas do teste de escala Hedônica para a décima formulação desenvolvida, apresentando mais de 80% das notas entre 5 (nem gostei nem desgostei) a 9 (gostei muitíssimo).

Figura 2.3: Frequência de notas do teste de escala Hedônica de 9 pontos para a formulação 10.



Ajustes com relação à proporção de água deionizada/soro de ricota, concentrações de ácido cítrico, cloreto de sódio, aroma de tangerina e corante amarelo crepúsculo foram realizados em todas as formulações. Somente na sexta formulação percebeu-se que a sacarose era o insumo que mais estava contribuindo para a quantidade de partículas osmoticamente ativas no meio. Da sétima a décima formulações, o teor de sacarose foi reduzido e pôde-se obter uma formulação que atendesse aos padrões de identidade da ANVISA.

As formulações nove e dez atenderam aos requisitos físico-químicos exigidos pela Legislação Brasileira. Optou-se pela formulação 10 por apresentar esta uma maior concentração de soro de ricota em sua composição (36,7%) e menor quantidade de açúcar (6,4%) frente à formulação 9 (33,7% de soro de 6,8% de açúcar), seguindo uma tendência mundial por produtos com menor quantidade de açúcar (LEVY et al., 2012).

Chávez (2001) elaborou uma bebida isotônica e Fontes et al. (2015) uma bebida eletrolítica utilizando o ultrafiltrado de soro de queijo (produto semelhante ao soro de ricota). Fontes et al. (2015) utilizaram somente o ultrafiltrado, sem a adição de água na formulação, já que de acordo com as características físico-químicas apresentadas pela Tabela 2.3, não havia a necessidade de diluição do soro. Em

contrapartida, Chávez (2001) produziu um isotônico com 10% de ultrafiltrado e 83,75% de água.

Chávez (2001), De Marchi, Monteiro e Cardello (2003), Petrus e Faria (2005), Santos, Alves e Lima (2013), Fontes e colaboradores (2015) desenvolveram bebidas isotônicas com teores de sólidos solúveis equivalentes a 8,2; 8,2; 6,2; 5,91 e 5,9 °Brix, respectivamente.

O valor de pH da formulação 10 (3,15) foi inferior àquele encontrado por Fontes et al., (2015) e Petrus e Faria (2005) (3,4) e semelhante ao pH determinado por Chávez (2001) (3,16). Santos, Alves e Lima (2013) e De Marchi, Monteiro e Cardello (2003) também obtiveram um valor similar (3,2). Corso e colaboradores (2006) avaliaram duas marcas comerciais de isotônico sabor tangerina e verificaram que os valores de pH das bebidas foram equivalentes a 2,94 e 3,31, respectivamente.

2.4.3.1 Testes sensoriais

As Figuras 2.4 a 2.9 ilustram os resultados obtidos nos testes de Escala do Ideal da formulação 10 para os seguintes atributos: cor de laranja, odor de tangerina, sabor de tangerina, acidez, gostos doce e salgado.

Figura 2.4: Respostas obtidas no teste de Escala do Ideal para “cor laranja”.

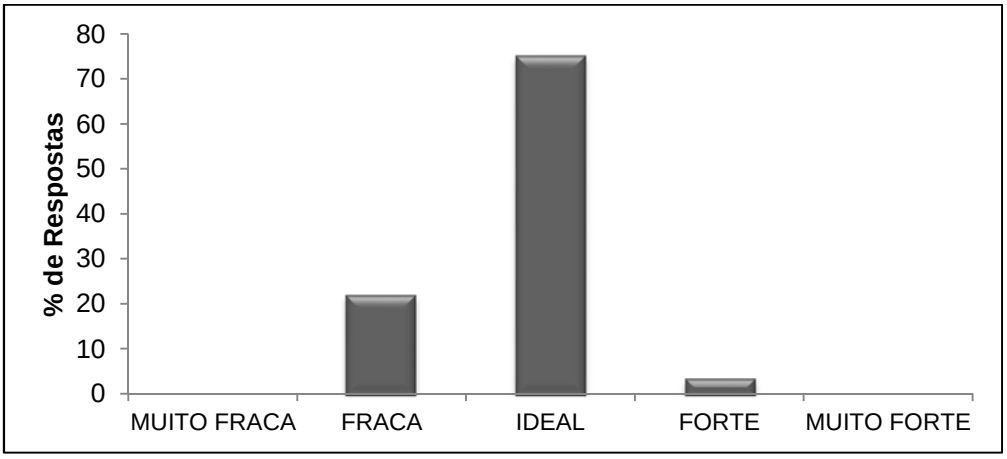


Figura 2.5: Respostas obtidas no teste de Escala do Ideal para “odor de tangerina”.

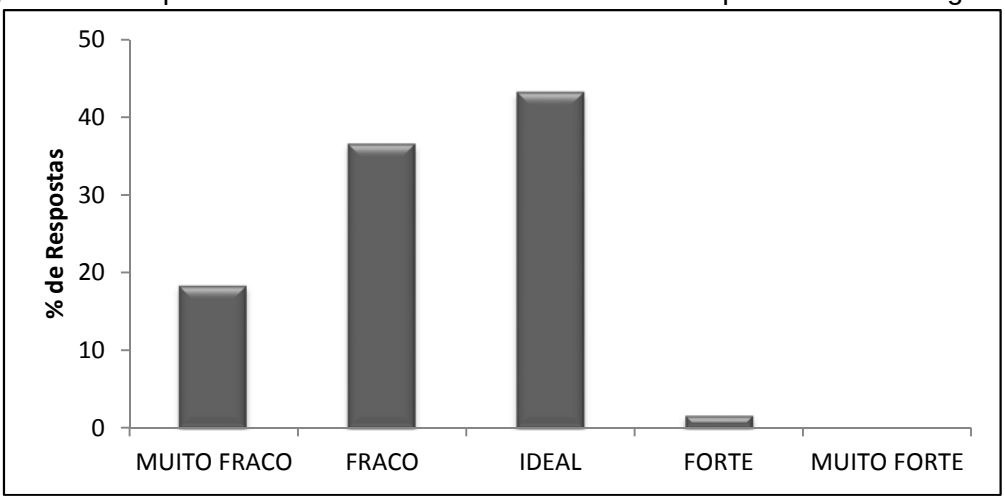


Figura 2.6: Respostas obtidas no teste de Escala do Ideal para “sabor de tangerina”.

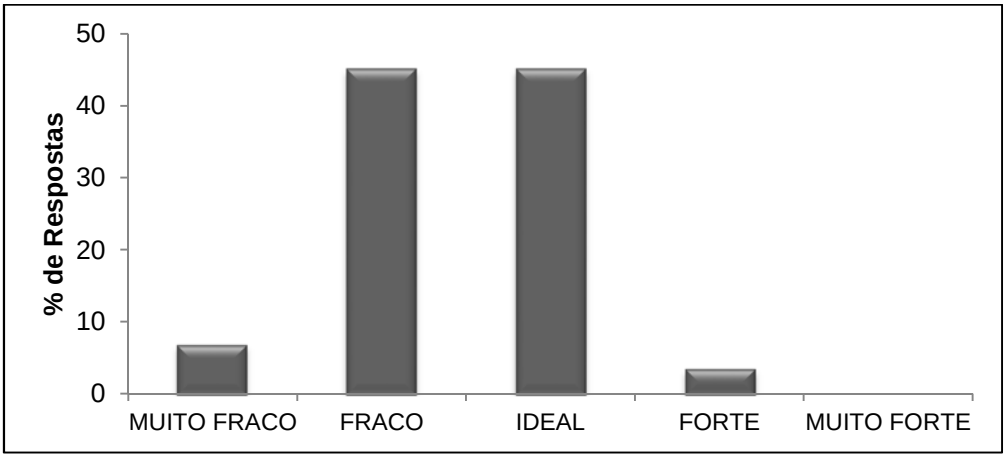


Figura 2.7: Respostas obtidas no teste de Escala do Ideal para “acidez”.

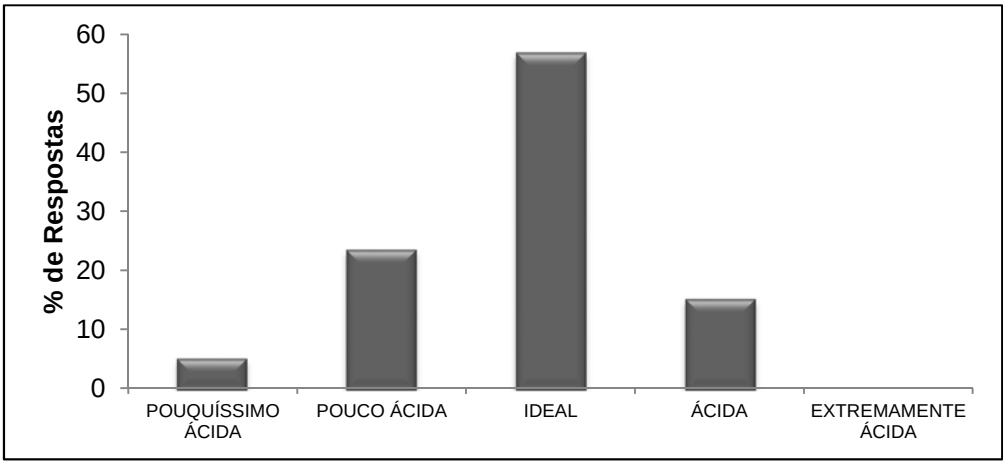


Figura 2.8: Respostas obtidas no teste de Escala do Ideal para “gosto doce”.

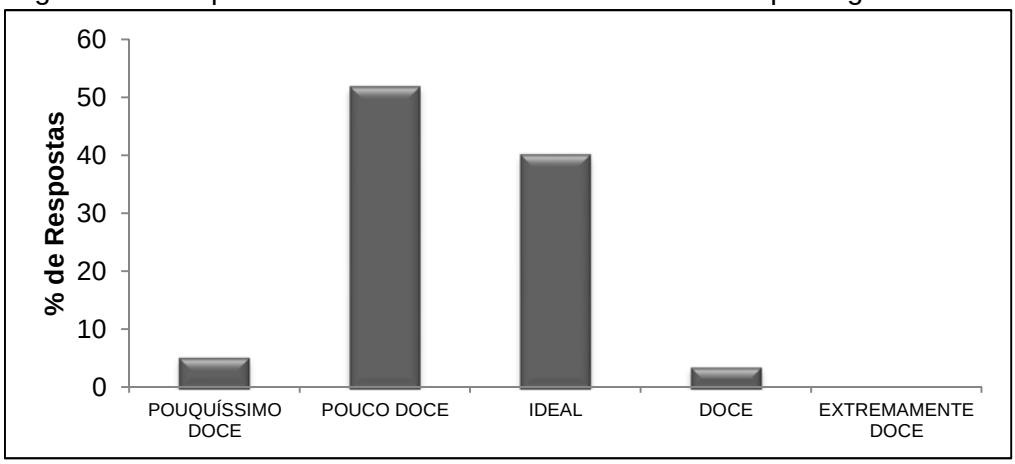
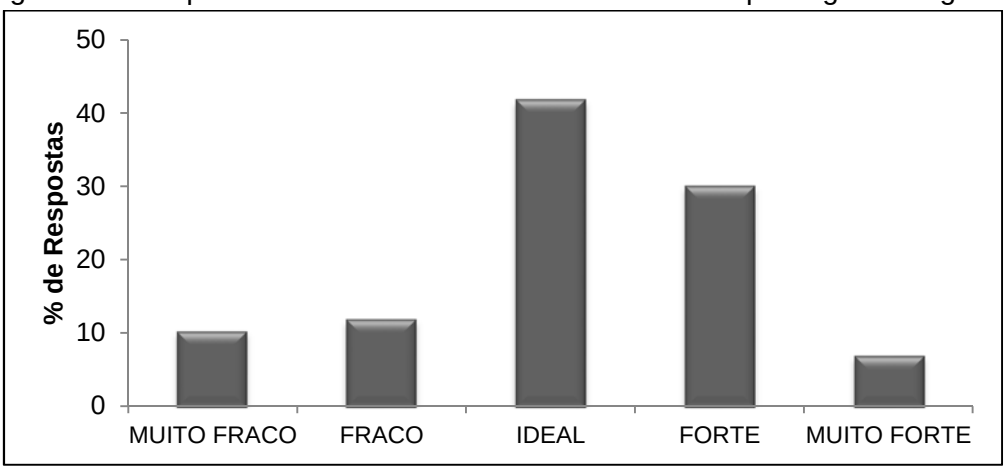


Figura 2.9: Respostas obtidas no teste de Escala do Ideal para “gosto salgado”.



Como pode ser observado nas Figuras 2.4 a 2.9, somente a cor atingiu o índice de porcentagem de respostas recomentado (70%) para a categoria “ideal” (FERREIRA et al., 2000).

Em relação ao grau de dulçor, observou-se uma maior tendência dos provadores para uma bebida com um gosto mais doce, uma vez que 50% das respostas, aproximadamente, concentraram-se em pouco doce (Figura 2.8). Contudo, para que a bebida atendesse aos padrões físico-químicos exigidos, não foi adicionada mais sacarose à formulação.

Uma reação oposta ocorreu em relação ao gosto salgado (Figura 2.9); 30% dos provadores o avaliou como forte e 7% como muito forte. Ressalta-se, todavia, que adicionou-se à formulação a mínima quantidade de cloreto de sódio necessária para satisfazer aos padrões legais, em relação à concentração de sódio. No leite estão presente outros minerais além do sódio e do potássio, como por exemplo, o cálcio, o magnésio e o fósforo, que podem contribuir para o gosto salgado da bebida.

A acidez da bebida (Figura 2.7) foi considerada forte por 15% dos provadores e fraca por 23%, sendo que a maioria (57%) a considerou ideal.

Os resultados ilustrados pelas Figuras 2.4 e 2.5 sugeriram a necessidade de aumento da concentração de aroma de tangerina, mas para diversas formulações elaboradas, com incrementos substanciais na concentração de aroma (60% de aumento comparando-se a primeira e a décima formulação), as respostas obtidas no teste de Escala do Ideal mantiveram-se constantes, por isso, optou-se pela manutenção da concentração de aroma. Atribui-se esta observação à participação de provadores não treinados.

2.4.3.2 Testes microbiológicos

Os resultados das análises microbiológicas (Tabela 2.5) do soro de ricota utilizado no desenvolvimento da formulação, realizadas antes de cada teste sensorial, demonstraram que a bebida manteve-se estável. A despeito da estabilidade microbiológica do soro, verificou-se diferença estatisticamente significativa entre as médias das contagens realizadas ao longo do período de desenvolvimento da formulação e a média das contagens realizadas na data do processamento. A Instrução Normativa nº 16 de 23 de agosto de 2005 (BRASIL, 2005) estipula um limite de $1,5x10^5$ UFC/mL de bactérias mesófilas aeróbias para bebida láctea pasteurizada.

Tabela 2.5: Contagem de bactérias mesófilas aeróbias totais em soro de ricota pasteurizado ao longo do período de desenvolvimento da formulação isotônica.

Tempo de estocagem a 0 °C (dias)	Média de contagem ± desvio padrão (UFC/mL)
0	$<1^a$ (est) ± 0,6
125	$10,7^b$ ± 1,5
131	$11,0^b$ ± 1,7
145	$11,0^b$ ± 1,0
159	$12,7^b$ ± 1,5
174	$13,3^b$ ± 2,1
180	$13,7^b$ ± 1,5
255	$15,0^b$ ± 1,0
262	$16,7^b$ ± 1,5

Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). (est) – valor estimado.

2.5 CONCLUSÕES

Concluiu-se que o aproveitamento do soro de ricota destinado à elaboração de uma bebida isotônica constitui uma alternativa tecnologicamente viável, com possibilidade de agregação de valor a um subproduto da indústria de laticínios que é comumente descartado. O trabalho de pesquisa desenvolvido resultou na obtenção de um suplemento hidroeletrolítico palatável, em conformidade com os padrões de identidade estabelecidos pela Legislação Brasileira vigente.

2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIR – Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e Bebidas Não Alcoólicas. **Gatorade lança embalagem de 1 L para atender consumidores**, 2011. Disponível em: < http://abir.org.br/2011/07/29/gatorade-lanca-embalagem-de-1l-para-atender-consumidores/>. Acesso em: 06 ago. 2014.

ALBUQUERQUE, L.C. **Queijos no Mundo**: Origem e Tecnologia. Juiz de Fora, v.1, p. 107, 2002.

ALBUQUERQUE, L.C. **Queijos no mundo**: o mundo italiano dos queijos. Juiz de Fora: Templo Gráfica e Editora, v.3, p.124, 2003.

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 19th ed. Arlington: AOAC, 2012.

BALD, J.A.; GENNARI, A.; VINCENZI, A.; LEHN, D.N.; SOUZA, C.F.V. **Características físico-químicas de soros de queijo e ricota produzidos em um laticínio do Vale do Taquari, RS**. XIX Seminário de Iniciação Científica. 2013. Disponível em: < http://online.unisc.br/acadnet/anais/index.php/semic/article/view/11579>. Acesso em: 30 set. 2014.

BALD, J.A.; VINCENZI, A.; GENNARI, A.; LEHN, D.N.; SOUZA, C.F.V. Características físico-químicas de soros de queijo e ricota produzidos no Vale do Taquari, RS. **Revista Jovens Pesquisadores**, Santa Cruz do Sul, v.4, n.1, p.90-99, 2014.

BRASIL. Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005. Aprovar o regulamente técnico de identidade e qualidade da bebida láctea. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 7, 2005.

BRASIL. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF. 14 dez. 2006. Seção 1, p.8.

BRASIL. Resolução 18, de 27 de setembro de 2010. Aprovação, regulamento técnico, alimento para praticante de atividade física, atleta profissional, composição dos alimentos, rotulagem, suplemento alimentar. **Diário Oficial da União**, Seção I, p. 211, 2010.

BRITO, C.J.; MARINS, J.C.B. Caracterização das práticas sobre hidratação em atletas da modalidade de judô no estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira Ciência e Movimento**, Viçosa, v.13, n.2, p.59-74, 2005.

CHÁVEZ, J.E.T. **Utilización del ultrafiltrado de suero pasteurizado del queso para el desarrollo de una bebida isotónica**, 2001. Disponível em: < http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1332/1/T1263.pdf>. Acessado em: 27 jan 2015.

CHRISTENSEN, Z.T.; OGDEN, L.V.; DUNN, M.L.; EGGETT, D.L. Multiple comparison procedures for analysis of ranked data. **Journal of Food Science**, Chicago, v.71, n.2, p.132-143, 2006.

CORSO, S.; PADILHA, D.M.P.; CORSO, A.C.; HUGO, F.N. Avaliação do potencial erosivo de sucos de fruta artificiais em pó, refrigerantes, isotônicos e chás enlatados disponíveis comercialmente. **Revista da Faculdade de Odontologia**, Passo Fundo, v.11, n.1, p.45-50, 2006.

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

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. EMBRAPA – Gado de leite. **Produção Brasileira de Queijos – (toneladas)**. [200-]. Disponível em: <http://www.cnpgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/industria/tabela0424.php> Acesso em: 29 ago. 2011.

FERREIRA, V.L.P.; ALMEIDA, T.C.A.; PETTINELLI, M.L.C.V.; SILVA, M.A.A.P.; CHAVES, J.P.B.; BARBOSA, E.M.M. **Análise Sensorial**: Testes Discriminativos e Afetivos. Campinas: SBCTA, p.127, 2000.

FONTES, E.A.F.; ALVES, Y.P.C.; FONTES, P.R.; MINIM, V.P.R. Bebida eletrolítica a base de permeado da ultrafiltração de leite: avaliação física, química e microbiológica durante o armazenamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.2, p.342-348, 2015.

LEVY, R.B.; CLARO, R.M.; BANDONI, D.H.; MONDINI, L.; MONTEIRO, C.A. Disponibilidade de “açúcar de adição” no Brasil: distribuição, fontes alimentares e tendência temporal. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v.15, n.1, p.3-12, 2012.

MARINS, J.C.B.; FERREIRA, F.G. Nível de conhecimento dos atletas universitários da UFV sobre hidratação. **Fitness & Performance Journal**, Rio de Janeiro, v.4, n.3, p.175-187, 2005.

MEILGAARD, M.M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensorial Evaluation Techniques**. New York: CRC Press. 3 ed., 1999.

MONTEIRO, M; DE MARCHI, R. **Bebidas isotônicas.** In: VENTURINI FILHO, V.G. (coordenador), Bebidas não alcoólicas – Ciência e Tecnologia, v.2, Cap 5. São Paulo: Blucher, 2010.

MONTEIRO, MARTINS, M.F. **Processo de desenvolvimento de produtos na indústria de alimentos: estudo de caso em um fabricante de biscoitos de grande porte**. V Congresso Brasileiro de Gestão de Desenvolvimento de Produtos, Curitiba, 10 a 12 de agosto de 2005. Disponível em: <http://www.gepeq.dep.ufscar.br/arquivos/4542.pdf>. Acessado em: 21 fev. 2015.

PETRUS, R.R.; FARIA, J.A.F. Processamento e avaliação de estabilidade de bebida isotônica em garrafa plástica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.3, p.518-524, 2005.

PORTER, M.E.; LINDE, C.V. Green and competitive: ending the stalemate. **Harvard Business Review**, Boston, September-October, 1995.

SANSONETTI, S.; CURCIO, S.; CALABRÒ, V.; IORIO, G. Bio-ethanol production by fermentation of ricotta cheese whey as an effective alternative non-vegetable source. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v.33, n.12, p.1687-1692, 2009.

SANSONETTI, S.; CURCIO, S.; CALABRÒ, V.; IORIO, G. Optimization ricotta cheese whey (RCW) fermentation by response surface methodology. **Bioresource Technology**, Essex, v.101, n.23, p.9156-9162, 2010.

SARACENO, A.; SANSONETTI, S.; CALABRÒ, V.; IORIO, G.; CURCIO, S. A comparison between different modeling techniques for the production of bio-ethanol from dairy industry wastes. **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, Zagreb, v.25, n.4, p461-469, 2011.

SANTOS, E.S.M.; ALVES, R.M.; LIMA, C.S. Elaboração tecnológica e aceitação sensorial de bebida isotônica orgânica de tangerina (*Citrus reticulada* Blanco). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.72, n.1, p.87-92, 2013.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. São Paulo: Varela, 4ª ed. 2010.

SRINIVASAN, D.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 4ª ed., 900p., 2010.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 3 ed. London: Academic Press, 2004.

USDA/FAS. **Annual Dairy Report: Brazi**l. In United States Departmen of Agriculture (USDA)/ Foreign Agricultural Service (FAS). 2013. Disponível em: <http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Dairy%20and%20Products%20Annual_Brasilia_Brazil_10-16-2013.pdf>. Acessado em 26 jan. 2015.

WILLE, G.M.F.C. **Desenvolvimento de novos produtos: as melhores práticas em gestão de projetos em indústrias de alimentos no Estado do Paraná**. 2004. 188p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

ZOCCAL, R. **Produção de leite, vacas ordenhadas e produtividade animal no Brasil – 1980/2010***. EMBRAPA – Gado de leite, 2011. Disponível em: <http://www.cnpgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/tabela0230.php>. Acesso em: 29 ago. 2011.

Capítulo 3

PROCESSAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO SUPLEMENTO HIDROELETROLÍTICO DESENVOLVIDO A PARTIR DO SORO DE RICOTA

RESUMO

A tecnologia dos obstáculos é um conceito bastante aplicado e difundido na indústria de alimentos, garantindo a produção de alimentos seguros, com qualidade e maior tempo de vida útil. O estudo descrito nesse capítulo teve como objetivos a estabilização e a caracterização físico-química, microbiológica e sensorial da bebida isotônica desenvolvida a partir do soro de ricota. Realizou-se um delineamento experimental fatorial 2^2 com três pontos centrais (totalizando sete ensaios/processamentos) em que foram estudadas diferentes combinações de tempo e temperatura de pasteurização, a citar: 85 °C/30 s, 85 °C/50 s, 95 °C/30 s, 95 °C/50 s e 90 °C/40 s (ponto central). Após o pré-tratamento com lactase (8 °C/24 h), adicionaram-se ao soro de ricota água deionizada, ácido cítrico, corante amarelo crepúsculo, cloreto de sódio, aroma de tangerina e sacarose. A bebida formulada foi pasteurizada e acondicionada assepticamente em garrafas de polietileno tereftalato (PET) pigmentadas com TiO_2, previamente descontaminadas. Uma fração do lote foi estocada a -18 °C (amostras controle) e a outra fração estocada a 25 °C. Contagens de mesófilos aeróbios foram realizadas na bebida antes e após a pasteurização. Testes físico-químicos para determinação do pH, da cor, da acidez titulável, da osmolalidade, dos teores de sólidos solúveis, de sódio e de potássio foram realizados na bebida pasteurizada. Testes sensoriais de Escala Hedônica Estruturada de nove pontos foram aplicados a 60 provadores não treinados para avaliação do sabor, do aroma e da aparência da bebida. As contagens de bactérias mesófilas aeróbias na bebida isotônica não pasteurizada foram inferiores a 10^4 UFC/mL, para todos os lotes, e inferiores a 10^1 UFC/mL para o produto recém-pasteurizado. Os valores de pH do produto processado situaram-se entre 2,99 e 3,14; os teores de sólidos solúveis variaram entre 6,37 a 6,43 °Brix; a acidez titulável variou de 0,299 a 0,432% de ácido cítrico (m/v); a osmolalidade, de 319 a 330 mOsm/kg de água, os teores de sódio, de 508 a 533 mg/L; e de potássio de 570 a 690 mg/L. Os parâmetros de cor *L**, *a** e *b** variaram de 45,70 a 52,56; de 18,19 a 19,68; e de 41,58 a 51,32, respectivamente. As médias das notas obtidas nos testes de Escala Hedônica de nove pontos alcançaram 6 (gostei ligeiramente) para o aroma e para o sabor, e situaram-se entre 6 (gostei ligeiramente) e 7 (gostei moderadamente) para a aparência. A análise estatística dos resultados revelou que somente o tempo de retenção aplicado no tratamento térmico produziu efeito significativo ($p < 0,05$) no sabor da bebida. As maiores notas para o sabor foram obtidas com a aplicação do binômio tempo x temperatura mais brando (85 °C/30 s). Para os demais atributos (aroma e aparência) assim como para os parâmetros físico-químicos (pH, acidez titulável, teor de sólidos solúveis e parâmetros

de cor (*L**, *a** e *b**)) nem o tempo de retenção nem a temperatura de pasteurização exerceram efeitos significativos. Concluiu-se que a combinação de tecnologias aplicadas revelou-se eficiente para redução da carga microbiana inicial e para a obtenção de uma bebida com boa aceitação sensorial e em conformidade com padrões de identidade estabelecidos pela legislação brasileira.

Palavras-chave: Isotônico, tecnologia dos obstáculos, delineamento fatorial, envase asséptico.

ABSTRACT

The hurdle technology is a widespread concept in the food industry, and ensures the production of safe food, with high quality and longer shelf life. This study focused the stabilization and the physicochemical, microbiological and sensory evaluation of a sports drink made with ricotta cheese whey (RCW). Different binomials, holding time x pasteurization temperature, were tested according to a factorial design as follows: 85 °C/30 s, 85 °C/50 s, 95 °C/30 s, 95 °C/50 s e 90 °C/40 s (central point). The RCW was pre-treated with lactase at 8 ºC for 24 hours. Then deionized water, citric acid, sunset yellow coloring, sodium chloride, sucrose and tangerine flavor were added. The formulated drink was pasteurized and aseptically filled into pigmented polyethylene terephthalate (PET) bottles which were previously sanitized. One third (1/3) of each batch was stored at -18 °C (control samples) and two thirds (2/3) stored at 25 °C. Counts of aerobic mesophilic bacteria were conducted both before and after drink pasteurization. The pH values, color parameters, titratable acidity, osmolality, soluble solids, sodium and potassium levels were determined. Nine-point Hedonic Scale tests were applied to 60 panelists to evaluate the flavor, aroma and appearance of the drink. Counts of aerobic mesophilic bacteria in the non-pasteurized drink were lower than 10^4 CFU/mL for all batches, and lower than 10^1 CFU/mL for the freshly pasteurized product. The pH values of the end product ranged between 2.99 and 3.14; the soluble solids content was 6.4 °Brix, titratable acidity ranged from (0.299 to 0.432)% of citric acid (w/v), the osmolality from (319 to 330) mOsm/kg água, sodium and potassium levels from (508 to 533) mg/L and from (570 to 690) mg/L, respectively. The color parameters L*, a* and b* ranged from 45.70 to 52.56; 18.19 to 19.68 and 41.58 to 51.32, respectively. The average ratings obtained in the nine-point Hedonic Scale tests reached 6 (“liked slightly”) for aroma and flavor, and ranged from 6 (“liked slightly”) to 7 (“liked moderately”) for appearance. The statistical analysis showed that only the holding time of thermal processing had significant ($p < 0.05$) effect in the flavor. For other attributes (aroma and appearance) as well as physicochemical parameters neither the holding time nor the pasteurization temperature had significant effects. The combination of technologies proved to be effective in reducing the initial microbial population and producing a sports drink made with RCW with good sensory acceptance and in compliance with Brazilian Food Regulation.

Keywords: sports drink, hurdle technology, factorial design, aseptic filling.

3.1 INTRODUÇÃO

Os suplementos hidroeletrolíticos, ou isotônicos, são bebidas que apresentam concentrações de minerais semelhantes às encontradas nos fluidos orgânicos e são formulados especialmente para atletas e praticantes de exercícios físicos intensos (MONTEIRO; DE MARCHI, 2010).

De acordo com a Resolução n° 18, de 27 de abril de 2010 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2010), um suplemento hidroeletrolítico para atletas é um produto destinado a auxiliar a hidratação e deve atender aos seguintes padrões de identidade:

- A concentração de sódio no produto pronto para consumo deve situar-se entre 460 e 1150 mg/L, devendo ser utilizados sais inorgânicos para fins alimentícios como fonte de sódio.
- A osmolalidade do produto pronto para consumo deve situar-se entre 270 e 330 mOsm/kg água.
- Os carboidratos podem constituir até 8% (m/v) do produto pronto para consumo (quanto ao teor de frutose, quando adicionada, não pode ser superior a 3% (m/v) do produto pronto pra consumo).
- O produto pode ser adicionado de vitaminas e minerais, conforme regulamento técnico específico sobre adição de nutrientes essenciais.
- O produto pode ser adicionado de potássio em até 700 mg/L.
- O produto não pode ser adicionado de outros nutrientes e não nutrientes.
- O produto não pode ser adicionado de fibras alimentares, amidos e polióis.

A crescente demanda por alimentos de alta qualidade nutricional e sensorial, isentos de aditivos químicos, tem levado a indústria de alimentos a elaborar e aprimorar as tecnologias de processamento (GEREMIAS-ANDRADE, 2014). Neste cenário, um conceito bem consolidado e amplamente empregado nas plantas de processamento de alimentos é a tecnologia dos obstáculos ou tecnologia dos processos combinados (LEISTNER; GORRIS, 1995).

Os métodos tradicionais de conservação de alimentos incluem a diminuição do pH com a adição de ácidos orgânicos, o tratamento térmico, a adição de conservadores, o envase asséptico entre outros. Estes podem ser aplicados de forma branda, porém quando atuam em sinergismo, fazem com que cada um atue sobre um determinado fator de deterioração e de perda de qualidade durante a estocagem do

produto (LEVI; GAGEL; JUVEN, 1985; WELTI-CHANES; VERGARA-BALDERAS; LOPEZ-MALO, 2000; PETRUS, 2000).

A bebida isotônica, por apresentar valores de pH próximos a 3,5, restringe consideravelmente o desenvolvimento de micro-organismos no meio, limitando-se a bolores, leveduras e bactérias láticas (LANDRY; SCHWAB; LANCETTE, 2001). De acordo com Franco e Landgraf (2008), estes grupos são geralmente destruídos na pasteurização.

De acordo com Monteiro e De Marchi (2010), a alta acidez do isotônico, o tratamento térmico (pasteurização), a assepsia e adequação da embalagem e as condições de estocagem são fatores determinantes para a conservação da bebida.

As bebidas isotônicas podem ser pasteurizadas e acondicionadas a altas temperaturas (em torno de 90 °C); podem ser tratadas termicamente e envasadas a temperatura ambiente, em condições assépticas ou utilizando-se um agente conservador. No acondicionamento asséptico, o ambiente de envase é rigorosamente controlado em relação à pureza e à esterilidade do ar, além de ter pressão positiva (PETRUS; FARIA, 2005). O acondicionamento asséptico visa aumentar a vida útil do produto sem a necessidade de refrigeração e de adição de conservadores químicos, reduzindo desta forma os custos de estocagem e distribuição e preservando a qualidade da bebida (KRONES NEWS, 2008).

Petrus e Faria (2005) processaram 3 lotes de bebida isotônica. O primeiro lote continha 100 mg de sorbato/L de bebida, o segundo lote continha 50 mg de sorbato/L de bebida e o terceiro lote não foi adicionado do conservador. Os autores constataram, com base em análises microbiológicas, que a bebida permaneceu estável nos três lotes processados, indicando a possibilidade de eliminação do conservador químico.

3.2 OBJETIVOS

Os objetivos do estudo descrito neste capítulo consistiram na estabilização microbiológica da bebida isotônica desenvolvida, baseado na combinação de métodos de processamento e envase, na avaliação do efeito de diferentes binômios tempo x temperatura aplicados na pasteurização, e na caracterização microbiológica, físico-química e sensorial do produto.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Delineamento fatorial

A formulação 10, descrita na Tabela 2.4 do Capítulo 2, foi utilizada em todos os processamentos realizados.

Diferentes binômios tempo x temperatura foram investigados empregando-se um delineamento experimental fatorial 2^2 com 3 pontos centrais, totalizando sete ensaios (processamentos). A relação entre os códigos de cada nível e os valores das variáveis independentes está apresentada na Tabela 3.1. Para a definição das faixas de temperatura e dos tempos de retenção, levou-se em consideração as características físico-químicas do repositor hidroeletrolítico, notadamente o seu pH ácido (próximo a 3,0), as limitações operacionais do trocador de calor disponível na planta piloto utilizada, bem como os valores de resistência térmica dos bolores e leveduras ($D_{65,6°C}$=0,5 a 1,0 minutos e $Z_{65,5°C}$=4,4 a 5,6 °C (SILVA et al., 2010)).

Tabela 3.1: Delineamento experimental com os níveis reais e codificados das variáveis independentes.

Variável/Código	-1	0	1
Temperatura de pasteurização (°C)	85	90	95
Tempo de retenção (s)	30	40	50

(-1) nível inferior, (0) ponto central, (+1) nível superior.

A matriz do delineamento fatorial, visando à identificação do binômio tempo x temperatura que resultaria em uma bebida comercialmente esterilizada, assim como em um nível de aceitação sensorial superior, é apresentada na Tabela 3.2.

Tabela 3.2: Matriz de delineamento fatorial 2^2 para processamento térmico do suplemento hidroeletrolítico elaborado com soro de ricota.

Ensaio experimental	Fatores (variáveis independentes)		Respostas (variáveis dependentes)
	Temperatura de pasteurização (°C)	Tempo de retenção (s)	
1	85 (-1)	30 (-1)	Médias das notas obtidas nos testes de Escala Hedônica de nove pontos
2	95 (+1)	30 (-1)	
3	85 (-1)	50 (+1)	
4	95 (+1)	50 (+1)	
5	90 (0)	40 (0)	Médias dos parâmetros físico-químicos (sólidos solúveis, pH, acidez titulável e parâmetros de cor)
6	90 (0)	40 (0)	
7	90 (0)	40 (0)	

(-1) nível inferior, (0) ponto central, (+1) nível superior.

3.3.2 Processamento da bebida isotônica

A organização da sequência de realização dos processamentos da bebida foi definida de forma que os três ensaios do ponto central (5, 6 e 7) (Tabela 3.2), que indicam o erro experimental, fossem executados no início, no meio e no fim do estudo. Os ensaios de 1 a 4 foram definidos por meio de sorteio, como mostra a Tabela 3.3.

Tabela 3.3: Correspondência dos processamentos para cada ensaio.

Processamento	Ensaio	Binômio	
		Tempo (s)	Temperatura (°C)
P1	5	40	90
P2	2	30	95
P3	4	50	95
P4	6	40	90
P5	1	30	85
P6	3	50	85
P7	7	40	90

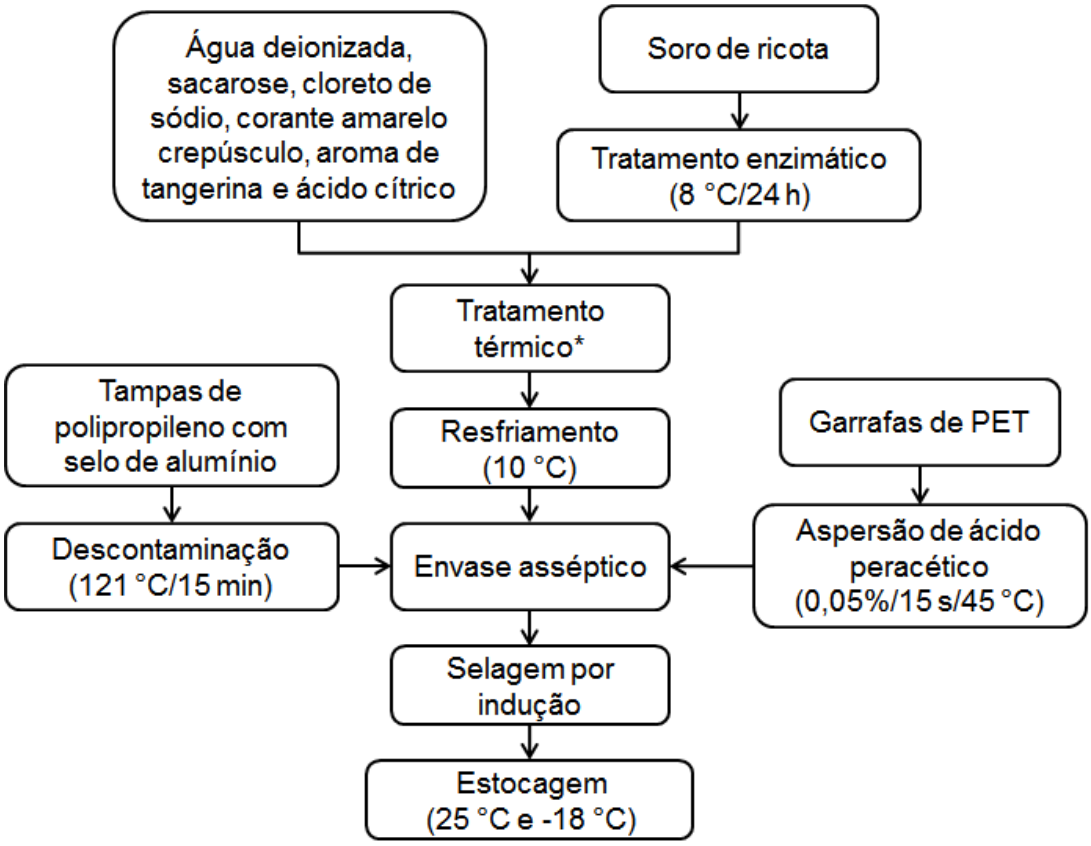
Os processamentos tiveram intervalo de execução de uma semana, sendo o primeiro realizado em 18 de março de 2014 e o último, em 29 de abril de 2014.

Em cada processamento foram realizados testes físico-químicos (acidez titulável, cor, pH, osmolalidade, teor de sólidos solúveis, sódio e potássio), sensoriais (Escala Hedônica) e microbiológicos (contagem de bactérias mesófilas aeróbias) para a bebida isotônica pasteurizada. Para o soro de ricota e para a bebida antes da

pasteurização foram realizados apenas testes microbiológicos (contagem de bactérias mesófilas aeróbias).

A produção do soro de ricota seguiu o mesmo procedimento descrito no item 2.3.2 do Capítulo 2 e as etapas de elaboração da bebida isotônica com soro de ricota estão apresentadas na Figura 3.1.

Figura 3.1: Fluxograma de produção experimental de bebida isotônica elaborada com soro de ricota.



* O binômio tempo x temperatura da pasteurização variou entre os processamentos, conforme Tabela 3.3.

Após o tratamento enzimático (8 °C por 24 h), o soro de ricota foi adicionado de água deionizada, sacarose, cloreto de sódio, corante amarelo crepúsculo, aroma de tangerina e ácido cítrico, respeitando-se a proporção estabelecida na Tabela 2.4 do Capítulo 2, para a formulação 10.

Os insumos foram misturados no tanque de recepção da linha de processamento (Figura 3.2 A / Figura 3.3 A), iniciando-se em seguida o tratamento térmico da bebida isotônica formulada no trocador de placas (Figura 3.2 B / Figura 3.3 B). Os tubos de retenção (mangueiras de silicone atóxico) de 30 (Figura 3.2 C), 40 e 50 s foram substituídos a cada processamento, conforme descrito na Tabela 3.3.

Após o tratamento térmico o produto foi imediatamente resfriado a 8 °C, aproximadamente, e acondicionado assepticamente em garrafas de PET pigmentadas com dióxido de titânio (TiO_2), adquiridas da Indústria Bandeirante (Guarulhos, Brasil), previamente higienizadas.

A descontaminação das garrafas foi feita por aspersão de solução de ácido peracético (Thech Desinfecção Ltda, Cotia, Brasil) (0,05% (v/v)/15 s/45 °C). O envase, conduzido a aproximadamente 12 °C, foi realizado utilizando-se uma dosadora gravimétrica semiautomática (Polienva-Movitron, São Paulo, Brasil) (Figura 3.3 E / Figura 3.4), instalada no interior de uma cabina de fluxo de ar unidirecional horizontal ISO classe 5, de fabricação Veco do Brasil (Campinas, Brasil) (Figura 3.3 D).

As garrafas foram tampadas (Figura 3.5) e seladas por indução (Figura 3.7), utilizando-se uma seladora Enercon modelo LM 5070-02 (Figura 3.6), fabricada pela Enercon Industries Corporation (Menomonee Falls, USA).

Figura 3.2: Tanque de recepção de matéria-prima (A), trocador de calor a placas (B) e seção de retenção (C).

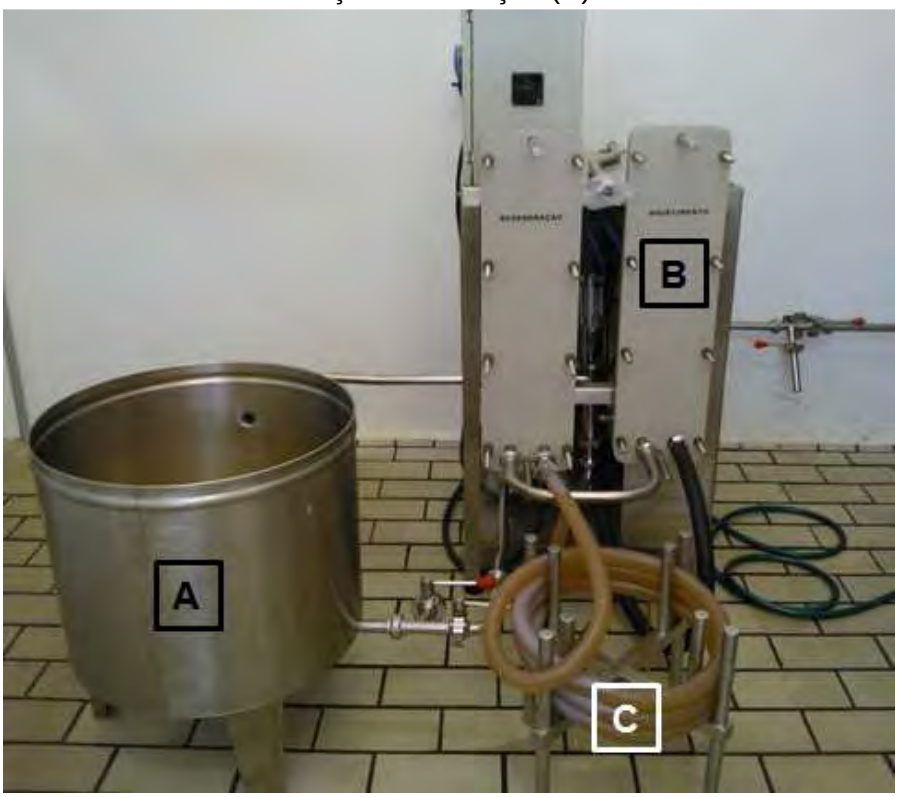


Figura 3.3: Vista parcial da planta piloto. Tanque de recepção/formulação (A), trocador de calor (B), contentor de produto pasteurizado (C), cabina de fluxo de ar unidirecional (D) e dosadora (E).

Figura 3.4: Dosagem gravimétrica.

Figura 3.5: Fechamento da embalagem.

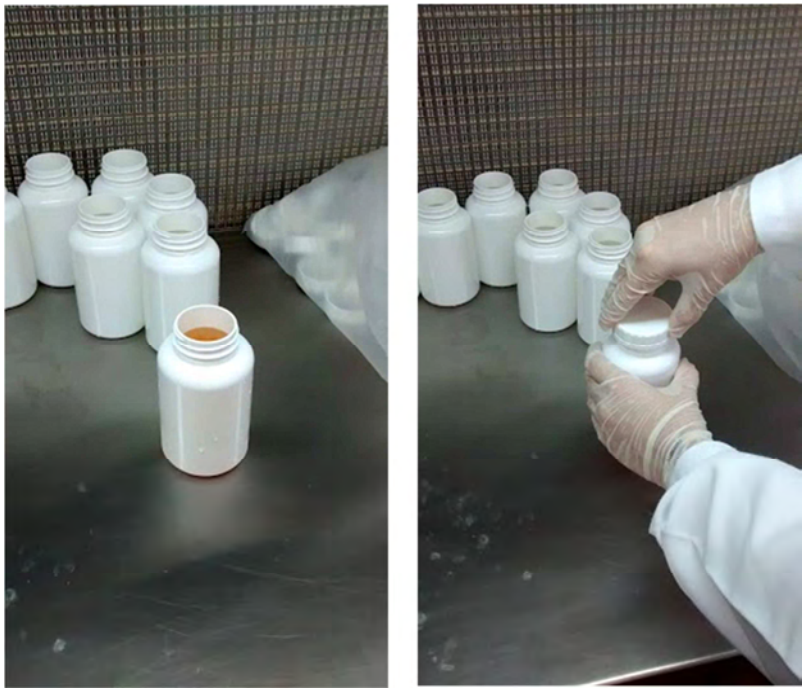


Figura 3.6: Seladora de indução.

Figura 3.7: Selagem por indução.

Após a selagem, uma fração dos lotes (aproximadamente 2/3) foi estocada a 25 °C, para teste de esterilidade comercial e estudo de vida útil (Capítulo 4); a segunda fração (1/3 do lote) foi estocada a -18 °C, utilizada como aporte de amostras controle nos testes sensoriais (Capítulo 4) e na caracterização da bebida.

3.3.3 Selagem por indução

Para identificar o melhor binômio tempo x potência para a indução e para garantir as condições de selagem das garrafas de PET utilizando tampas polipropileno com selo de alumínio e polietileno para selagem, foram realizados testes de estanqueidade da embalagem, de acordo com Padula et al. (1989) e ASTM (1999). Para tanto, as embalagens foram adicionadas de água tingida com corante amarelo crepúsculo, seladas e submersas dentro de uma câmara de vácuo (dessecador), permanecendo coberta por pelo menos 25 mm de água. Acoplou-se uma bomba de vácuo ao dessecador de maneira a elevar o vácuo forte o suficiente para garantir a sensibilidade do teste. Durante a aplicação do vácuo, a presença de vazamentos da embalagem submergida era facilmente detectada pelo aparecimento da cor alaranjada na água de submersão. O vácuo foi mantido por 30 segundos.

Após identificar qual o binômio tempo x potência para indução melhor se aplicou à garrafa de PET utilizada, fez-se um novo teste de estanqueidade e complementarmente, após a liberação do vácuo, as embalagens foram armazenadas invertidas, por 24 horas, sobre um papel absorvente. Caso houvesse vazamento da embalagem, este seria rapidamente indicado pela coloração laranja do papel.

3.3.4 Caracterização da bebida processada

Para caracterização da bebida resultante dos diferentes processamentos, foram realizados testes físico-químicos, microbiológicos e sensoriais.

3.3.4.1 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata de acordo com a metodologia da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2012). Para os sete processamentos foram realizadas análises de cor (MiniScanEZ 4500L HunterLab), teor de sólidos solúveis (refratômetro portátil digital Reichert modelo AR 200), pH (pHmetro Analyser modelo 300 M), acidez titulável (titulação com NaOH 0,1 M, sendo o ponto de viragem aquele o qual o pH atingiu o valor de 8,3), osmolalidade (osmômetro PLZ

Tecnologia modelo PZL – 1000) e determinação dos teores de sódio e potássio (fotômetro de chama Micronal modelo B462).

3.3.4.2 Análises microbiológicas

Com a finalidade de quantificar a contaminação inicial do isotônico (não pasteurizado), três amostras de cada lote foram coletadas no tanque de formulação (Figura 3.2 A / Figura 3.3 A). Para avaliar a eficiência do tratamento térmico, coletaram-se três amostras da bebida recém-pasteurizada. A primeira amostra foi retirada no início, a segunda no meio, e a terceira ao final do tratamento térmico. As amostras foram coletadas em frascos de vidro previamente esterilizados e transportadas para o Laboratório de Bioprocessos, no Departamento de Engenharia de Alimentos da FZEA/USP.

Procedeu-se à análise de mesófilos, de acordo com a metodologia descrita por Silva e colaboradores (2010). Adicionou-se 1 mL da bebida isotônica em placa de petri e em seguida, adicionou-se ágar para contagem padrão em placas (PCA) (Oxoid, Basingstoke, Reino Unido) fundido. As placas foram incubadas a 37 °C por 48 horas.

3.3.4.3 Análise sensorial

Testes de Escala Hedônica Estruturada de nove pontos foram aplicados para avaliar o sabor, o aroma e a aparência dos lotes processados e conduzidos no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Engenharia de Alimentos da FZEA/USP. O teste sensorial aplicado seguiu procedimento conforme descrito por Stone e Sidel (2004). Recrutaram-se 60 consumidores regulares de isotônicos não treinados, sendo estes, alunos de graduação, pós-graduação e funcionários da FZEA, com faixa etária compreendida entre 17 e 50 anos.

Amostras de cada lote, inicialmente estocadas a -18 °C, foram descongeladas sob refrigeração (4 °C por 48 horas) e utilizadas como controle.

Cada provador recebeu aproximadamente 30 mL da bebida servida a 4 °C, um copo de água e uma ficha de avaliação (Apêndice C), para cada uma das sete amostras, que foram apresentadas monadicamente, seguindo um delineamento para blocos completos aleatorizados.

A execução dos testes sensoriais foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FZEA/USP (Parecer n° 359.879).

3.3.5 Análise estatística dos resultados

Os dados obtidos nos testes microbiológicos, físico-químicos e sensoriais foram submetidos à análise de variância (ANOVA), a 5% de significância, e o teste de Tukey para comparação das médias.

Os dados gerados a partir do delineamento fatorial foram submetidos à ANOVA, utilizados na construção de diagramas de Pareto e processados por meio da metodologia de superfície de resposta, a um nível de significância de 5%.

Os dados foram analisados por meio do programa SAS 9.2 e Statistica 7.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 3.4 apresenta o volume de bebida isotônica obtido em cada processamento, tendo sido acondicionados 285 mL de produto em cada embalagem.

Tabela 3.4: Volume de bebida isotônica obtido.

Processamento	Número de embalagens	Volume total da bebida acondicionada (L)
1	140	40
2	177	50
3	184	52
4	182	52
5	178	51
6	183	52
7	185	53

O primeiro processamento foi o que apresentou o menor volume de bebida (40 L) frente aos outros lotes, que resultaram em 50 L de produto, aproximadamente. Esta diferença se deu pelo menor volume de soro de ricota produzido para o primeiro lote.

3.4.1 Análises microbiológicas

Em cada um dos sete processamentos realizados (Tabela 3.3) retiraram-se três amostras do isotônico do tanque de formulação (bebida não pasteurizada) e três amostras da bebida recém-pasteurizada para contagem de mesófilos aeróbios, com o intuito de quantificar o nível de contaminação antes e após o tratamento térmico. Em

todos os processamentos, as contagens iniciais foram inferiores a 10^4 UFC/mL de bebida, conforme apresentado na Tabela 3.5.

Tabela 3.5: Contagem de bactérias mesófilas aeróbias (UFC/mL) na bebida isotônica antes da pasteurização.

Processamento	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média
1	$4,3 \times 10^3$	$3,9 \times 10^3$	$4,1 \times 10^3$	$4,1 \times 10^3$ b
2	$1,2 \times 10^3$	$1,5 \times 10^2$	$1,3 \times 10^2$	$1,3 \times 10^2$ c
3	$3,7 \times 10^2$	$4,1 \times 10^2$	$3,5 \times 10^2$	$3,8 \times 10^2$ d
4	$2,7 \times 10^2$	$1,7 \times 10^2$	$2,2 \times 10^2$	$2,2 \times 10^2$ d
5	$7,4 \times 10^2$	$8,1 \times 10^2$	$7,9 \times 10^2$	$7,8 \times 10^2$ cd
6	$8,7 \times 10^2$	$7,3 \times 10^2$	$7,6 \times 10^2$	$7,9 \times 10^2$ cd
7	$8,7 \times 10^3$	$9,2 \times 10^3$	$9,4 \times 10^3$	$9,1 \times 10^3$ a

Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si ($p > 0,05$).

Os resultados da Tabela 3.5 mostram que a população de mesófilos quantificada nas amostras obtidas a partir dos sete processamentos atingiu um nível aceitável para uma bebida não pasteurizada. A diferença estatística entre as médias pode ser atribuída à utilização de matérias-primas (soro de ricota) obtidas em diferentes períodos da pesquisa, o que é natural do ponto de vista microbiológico.

Todas as amostras analisadas da bebida recém-pasteurizada (retiradas no início, meio e fim da pasteurização) apresentaram contagens inferiores a 1,0 UFC/mL, evidenciando o bom desempenho de todos os binômios tempo x temperatura aplicados na pasteurização.

3.4.2 Testes físico-químicos

Os resultados das análises físico-químicas das amostras dos lotes recém-processados estão apresentados na Tabela 3.6.

Tabela 3.6: Médias dos resultados das análises físico-químicas referentes ao tempo zero (t0) de estocagem dos lotes de bebida isotônica processada.

	pH	Sólidos solúveis (°Brix)	Acidez titulável (% m/v ácido cítrico)	Osmolalidade (mOsm/kg água)	Cor		
					*L**	*a**	*b**
P1	$3,02^{de} \pm 0,03$	$6,37^{a} \pm 0,37$	$0,432^{a} \pm 0,052$	$321,0^{c} \pm 0,0$	$47,11^{d} \pm 0,18$	$18,34^{c} \pm 0,24$	$46,35^{b} \pm 0,53$
P2	$3,12^{ab} \pm 0,01$	$6,40^{a} \pm 0,00$	$0,290^{d} \pm 0,002$	$325,3^{b} \pm 1,2$	$49,86^{b} \pm 0,17$	$19,21^{ab} \pm 0,12$	$47,65^{b} \pm 0,41$
P3	$3,14^{a} \pm 0,03$	$6,43^{a} \pm 0,07$	$0,359^{c} \pm 0,002$	$320,7^{c} \pm 0,6$	$49,35^{bc} \pm 0,16$	$18,76^{bc} \pm 0,17$	$44,44^{c} \pm 0,40$
P4	$3,08^{bc} \pm 0,03$	$6,37^{a} \pm 0,07$	$0,388^{bc} \pm 0,003$	$320,3^{cd} \pm 0,6$	$48,93^{c} \pm 0,59$	$19,68^{a} \pm 0,34$	$47,49^{b} \pm 0,52$
P5	$3,13^{a} \pm 0,01$	$6,37^{a} \pm 0,07$	$0,299^{d} \pm 0,002$	$319,0^{d} \pm 1,0$	$52,76^{a} \pm 0,12$	$18,56^{c} \pm 0,31$	$51,32^{a} \pm 0,68$
P6	$3,06^{cd} \pm 0,03$	$6,40^{a} \pm 0,00$	$0,424^{ab} \pm 0,003$	$329,3^{a} \pm 0,6$	$52,72^{a} \pm 0,071$	$18,50^{c} \pm 0,60$	$47,26^{b} \pm 1,58$
P7	$2,99^{e} \pm 0,01$	$6,43^{a} \pm 0,06$	$0,425^{a} \pm 0,002$	$330,0^{a} \pm 0,0$	$45,70^{e} \pm 0,02$	$18,19^{c} \pm 0,03$	$41,58^{d} \pm 0,05$

Médias seguidas por mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$).

Corso e colaboradores (2006) avaliaram o pH de duas marcas de isotônico de diversos sabores e encontraram uma média de pH de 2,79. Especificamente para o sabor tangerina, os valores foram 3,31 e 2,94, próximos aos determinados no presente estudo. Petrus e Faria (2005) processaram três lotes de um isotônico sabor laranja e obtiveram valores de pH de 3,4; acidez titulável de 0,1 g de ácido cítrico/100 mL e osmolalidade de 286,5 mOsm/kg água. Os teores de sólidos solúveis apresentaram uma pequena variação entre os três lotes, sendo 6,2, 6,3 e 6,0 °Brix, respectivamente. De Marchi, Monteiro e Cardello (2003) desenvolveram uma bebida isotônica utilizando polpa de maracujá na sua formulação. O pH da bebida foi de 3,2; o teor de sólidos solúveis de 8,2 °Brix e a acidez titulável equivalente a 0,47 g de ácido cítrico/100 mL. Fontes e colaboradores (2015) elaboraram um repositor eletrolítico sabor limão utilizando permeado da ultrafiltração de leite (produto semelhante ao soro de ricota) e encontraram valores de pH de 3,42; teor de sólidos solúveis de 5,9 °Brix, acidez titulável de 0,66 % de ácido cítrico (m/v) e osmolalidade de 311,6 mOsm/kg água. Chávez (2001) também desenvolveu uma bebida isotônica com permeado de ultrafiltração, porém o sabor utilizado pelo autor foi morango. O valor de pH foi 3,16; teor de sólidos solúveis de 8,2 °Brix e 293 mOsm/kg água de osmolalidade.

Conforme apresentado na Tabela 3.6, todos os sete lotes adequaram-se ao intervalo de osmolalidade estabelecido pela legislação (270 a 330 mOsm/kg água). Verifica-se, entretanto, que os processamentos seis e sete alcançaram o limite máximo, o que pode ser atribuído às variações inerentes à composição do soro de ricota.

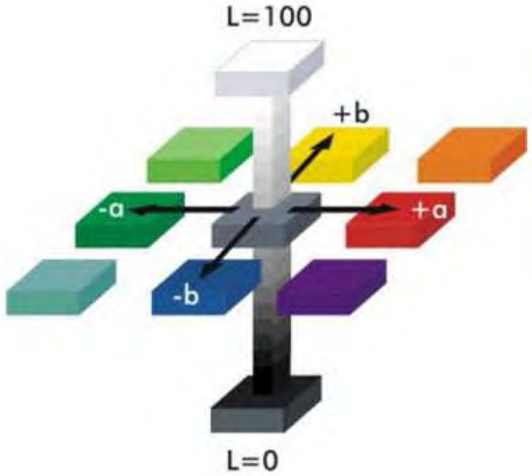
A Figura 3.8 mostra uma imagem da bebida isotônica do processamento 1.

Figura 3.8: Bebida isotônica desenvolvida a partir do soro de ricota resultante do processamento 1.

As amostras de bebida isotônica apresentaram diferenças estatísticas entre as médias dos parâmetros de cor (*L**, *a** e *b**) dos lotes processados.

O sistema CIEL*a*b* representa um dos sistemas de colorimetria para mensuração de cor. Neste sistema a coordenada *L** representa a luminosidade, expressa em porcentagem (de 0 para preto a 100 para o branco). Os canais *a** e *b** comportam a informação da cor. Em *a**, valores positivos indicam vermelho e negativo verde, enquanto em *b**, valores positivos indicam amarelo e negativo azul (Figura 3.9).

Figura 3.9: Espaço de cor do sistema CIEL*a*b*.



Os lotes 5 e 6 apresentaram maior luminosidade (*L**) e o lote 7 a menor luminosidade. Os lotes 2 e 4 apresentaram uma tonalidade vermelha (valor positivo de *a**) maior que os demais processamentos. Os valores positivos de *b** (relacionados à tonalidade amarela) apresentaram-se maiores no lote 5 e menores no lote 7. Esperava-se que o processamento 3, o mais severo de todos os tratamentos (95 °C/50 s), apresentasse uma luminosidade menor que os demais tratamentos aplicados devido às reações de Maillard, reação esta de escurecimento não-enzimático e que envolve aminoácidos e açúcares redutores, porém estas alterações não foram encontradas. Segundo Sansonetti e colaboradores (2009), o soro de ricota pode ter até 0,22% de proteínas renascentes.

A diferença entre a coloração das bebidas pode também ser causada pela cor amarelo esverdeada que o soro de ricota apresenta e que varia de acordo com a matéria-prima utilizada.

A Tabela 3.7 apresenta os teores de sódio e de potássio do soro de ricota e da bebida isotônica pasteurizada.

Tabela 3.7:Teores de sódio e potássio determinados no soro de ricota e na bebida isotônica pasteurizada.

Amostra	Processamento	Sódio (mg/L)	Potássio (mg/L)
Soro de ricota	1	520	1480
	2	520	1560
	3	533	1790
	4	520	1800
	5	533	1760
	6	600	1790
	7	520	1790
Bebida isotônica	1	510	570
	2	508	598
	3	513	685
	4	510	690
	5	515	675
	6	533	685
	7	508	685

O soro de ricota apresentou um teor de potássio acima do limite máximo estabelecido pela legislação (< 700 mg/L), motivando a adição de água deionizada ao soro durante a formulação da bebida. Com a adição de água, os teores de sódio, que estavam dentro da faixa estabelecida (460 a 1150 mg/L), ficaram abaixo de 460 mg/L. Para que estes valores fossem reajustados, procedeu-se à adição de cloreto de sódio.

Chávez (2001) encontrou valores de sódio e de potássio no permeado da ultrafiltração do leite de 362 e 1283 mg/L, respectivamente. Fontes e colaboradores (2015) encontraram 374,4 e 763,5 mg/L, respectivamente. Estes autores obtiveram valores para sódio inferiores ao encontrado nesta pesquisa e encontraram valores inferiores à metade dos valores obtidos neste estudo para o teor de potássio

Tais diferenças podem ser explicadas pelo tipo de alimentação do gado leiteiro, período de lactação e raça. De acordo com Philpot e Nickerson (2002), o leite ordenhado de vacas com mastite (inflamação na glândula mamária), apresentam o dobro de sódio e 50 % a mais de potássio no leite. Segundo Early (2000), Fonseca e Santos (2001), e Philpot e Nickerson (2002), o leite bovino possui normalmente 600, 580 e 570 mg de sódio/L, e 1300, 1380 e 1730 mg de potássio/L, respectivamente.

3.4.3 Análise sensorial

A Tabela 3.8 apresenta as médias das notas obtidas nos testes de Escala Hedônica estruturada de nove pontos para os atributos sabor, aroma e aparência.

Tabela 3.8: Médias e desvios padrão das notas do teste sensorial de Escala Hedônica de nove pontos para a bebida isotônica sabor tangerina elaborada com soro de ricota.

Processamento	Sabor	Aroma	Aparência
	média ± desvio padrão / % de aceitação*		
1	6,03[a] ± 1,70 / 81,7	6,53[a] ± 1,44 / 91,7	6,87[a] ± 1,27 / 95,0
2	5,98[a] ± 2,04 / 73,3	6,30[a] ± 1,55 / 86,7	6,90[a] ± 1,43 / 91,7
3	5,73[a] ± 1,88 / 76,7	6,65[a] ± 1,55 / 91,7	6,80[a] ± 1,67 / 88,3
4	5,78[a] ± 1,91 / 73,3	6,67[a] ± 1,43 / 91,7	6,87[a] ± 1,29 / 95,0
5	6,45[a] ± 1,90 / 78,3	6,65[a] ± 1,30 / 93,3	6,80[a] ± 1,46 / 91,7
6	5,65[a] ± 1,94 / 61,7	6,15[a] ± 1,66 / 83,3	6,78[a] ± 1,69 / 86,7
7	5,75[a] ± 1,89 / 71,7	6,35[a] ± 1,46 / 90,0	6,50[a] ± 1,56 / 90,0

Médias seguidas por mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ($p > 0,05$).
* percentual de notas superiores ou iguais a 5.

Os resultados apresentados na Tabela 3.8 revelaram que a bebida recém-processada teve uma boa aceitação sensorial para todos os atributos avaliados (sabor, aroma e aparência) em todos os lotes processados. As médias das notas para o sabor e o aroma ficaram próximas a 6 (gostei ligeiramente) e para a aparência próximas a 7 (gostei moderadamente).

Destaca-se que não houve diferença estatística, a 5% de significância, entre as médias das notas para todos os processamentos, em relação ao sabor, ao aroma e à aparência, demonstrando a homogeneidade dos lotes em relação à sua aceitação sensorial.

Chávez (2001) obteve 68% de aceitação da bebida isotônica elaborada com permeado da ultrafiltração do leite, em um teste realizado com 200 provadores. De Marchi, Monteiro e Cardello (2003) avaliaram a aceitação (teste de Escala Hedônica Estruturada de nove pontos) da bebida isotônica sabor maracujá recém-pasteurizada e obtiveram médias equivalentes a 6,9 para o aroma e para o sabor. Petrus e Faria (2005) obtiveram médias de 7,9 para aparência e 7,1 para o sabor, de uma Escala Hedônica Verbal de 9 pontos, para um isotônico sabor laranja. Santos, Alves e Lima (2013) avaliaram a aceitação sensorial de uma bebida isotônica orgânica de tangeria e obtiveram médias de 7,5 e 7,7 para aroma e sabor, respectivamente.

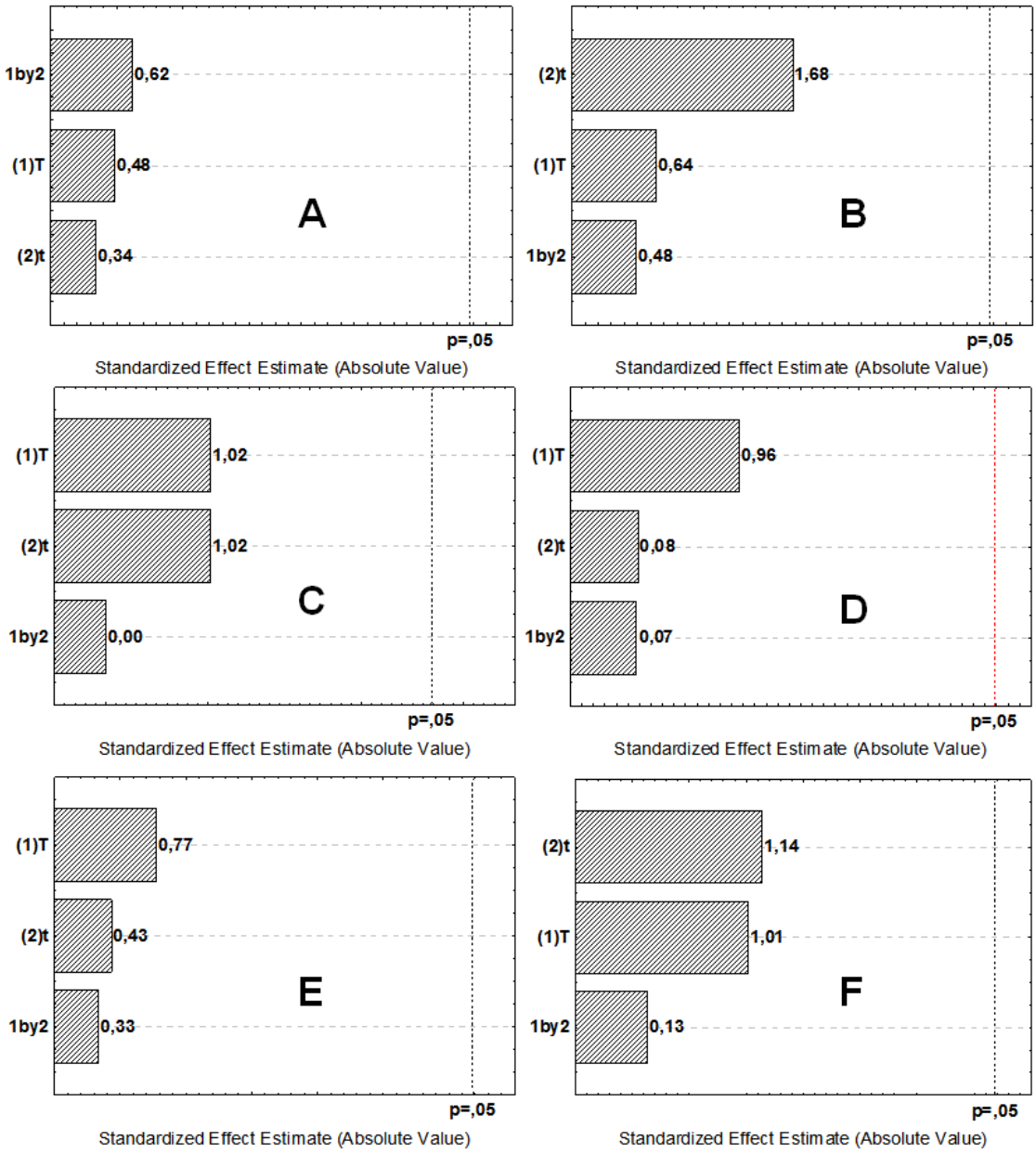
3.4.4 Análise de dados do delineamento fatorial

O delineamento fatorial foi desenvolvido para avaliar o impacto dos binômios tempo x temperatura, empregados na pasteurização do isotônico nos resultados dos testes físico-químicos (pH, acidez titulável, teor de sólidos solúveis e parâmetros de

cor (*L**, *a** e *b**)) (Tabela 3.6) e nas respostas do teste de Escala Hedônica (Tabela 3.8).

A Figura 3.10 apresenta os diagramas de Pareto e a Tabela 3.9 a análise de variância (ANOVA) para pH, acidez titulável e teor de sólidos solúveis e para os parâmetros de cor pela análise de efeitos principais e interação de primeira ordem para o delineamento fatorial 2^2 com 3 pontos centrais.

Figura 3.10: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) nos parâmetros físico-químicos. (A) pH; (B) acidez titulável; (C) teor de sólidos solúveis; (D) Parâmetro de cor *L**; (E) parâmetro de cor *a**; (F) parâmetro de cor *b**.



De acordo com os diagramas da Figura 3.10, os fatores estudados (tempo de retenção, temperatura de pasteurização e sua interação) não exerceram efeito significativo nas variáveis dependentes (respostas), a 5% de significância.

Tabela 3.9: Análise de variância (ANOVA) para o delineamento fatorial 2^2 para os testes físico-químicos (pH, acidez titulável, teor de sólidos solúveis) e parâmetros de cor (L*, a* e b*) do isotônico.

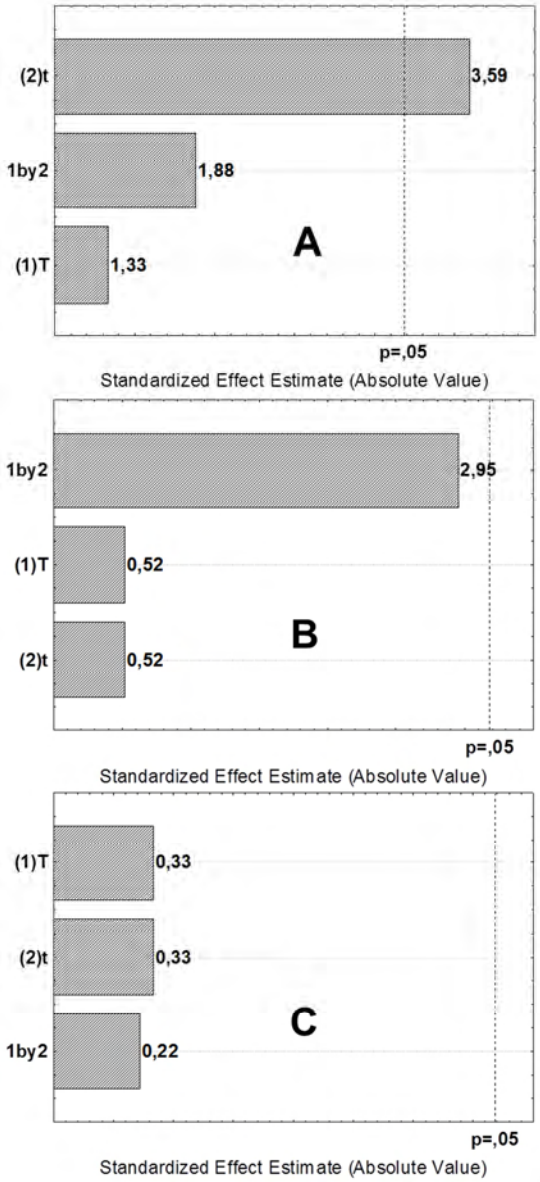
Resposta	Fonte de variação	Soma de Quadrados (SQ)	Graus de liberdade (GL)	Quadrados médios (QM)	Teste F	
					F_{calc}	F_{tab}
pH	Regressão (R)	0,0038	1	0,0038	**1,2**	**6,61**
	Residual (r)	0,0159	5	0,0032	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	0,0197			**$F_{calc} < F_{tab}$**	
	R^2	**0,2**				
Acidez titulável	Regressão (R)	0,0116	1	0,0116	**5,8**	**6,61**
	Residual (r)	0,01	5	0,002	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	0,0216			**$F_{calc} < F_{tab}$**	
	R^2	**0,54**				
Sólidos solúveis	Regressão (R)	0,0018	1	0,0018	**3,46**	**6,61**
	Residual (r)	0,0026	5	0,0005	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	0,0044			**$F_{calc} < F_{tab}$**	
	R^2	**0,41**				
L*	Regressão (R)	9,96	1	9,96	**1,57**	**6,61**
	Residual (r)	31,67	5	6,33	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	41,63			**$F_{calc} < F_{tab}$**	
	R^2	**0,24**				
a*	Regressão (R)	0,32	1	0,32	**1,54**	**6,61**
	Residual (r)	1,04	5	0,21	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	1,36			**$F_{calc} < F_{tab}$**	
	R^2	**0,23**				
b*	Regressão (R)	23,92	1	23,92	**3,91**	**6,61**
	Residual (r)	30,61	5	6,12	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	54,53			**$F_{calc} < F_{tab}$**	
	R^2	**0,44**				

F_{tab} com limite de 95% de confiança.

Conforme a Tabela 3.9, os parâmetros físico-químicos não sofreram influência dos efeitos do tempo de retenção, da temperatura de pasteurização e nem da interação. Tal afirmação pode ser aferida por meio do Teste F, que apresentou valores de F_{calc} menores que F_{tab}, para todos os parâmetros físico-químicos estudados. Ademais, os coeficientes de determinação foram muito baixos (< de 80%) (RODRIGUES; IEMMA, 2005).

A Figura 3.11 apresenta os diagramas de Pareto e a Tabela 3.10 a análise de variância (ANOVA) para os resultados dos testes de Escala Hedônica (sabor, aroma e aparência) pela análise de efeitos principais e interação de primeira ordem para o delineamento fatorial 2^2 com 3 pontos centrais.

Figura 3.11: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) na aceitação sensorial da bebida. (A) análise de sabor; (B) análise de aroma; (C) análise de aparência.



De acordo com a Figura 3.11, somente o tempo de retenção (t), empregado na pasteurização, produziu efeito significativo no intervalo de 95% de confiança. Apenas o sabor foi afetado por tal variável (t).

Tabela 3.10: Resultados da análise de variância para sabor, aroma e aparência do isotônico.

Resposta	Fonte de variação	Soma de Quadrados (SQ)	Graus de liberdade (GL)	Quadrados médios (QM)	Teste F	
					F_{calc}	F_{tab}*
Sabor	Regressão (R)	0,40	1	0,40	**33,33**	**6,61**
	Residual (r)	0,06	5	0,01	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	0,46			**$F_{calc} > F_{tab}$**	
	R^2	**0,86**				
Aroma	Regressão (R)	0,19	1	0,19	**15,42**	**6,61**
	Residual (r)	0,06	5	0,01	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	0,25			**$F_{calc} > F_{tab}$**	
	R^2	**0,76**				
Aparência	Regressão (R)	0,01	1	0,01	**0,50**	**6,61**
	Residual (r)	0,10	5	0,02	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	0,11			**$F_{calc} < F_{tab}$**	
	R^2	**0,08**				

Por meio do Teste F (Tabela 3.10), verificou-se que o F_{calc} foi maior que o F_{tab} para o sabor e para o aroma. Porém, somente o aroma apresentou coeficiente de determinação acima de 80%, evidenciando a validade do modelo linear de primeira ordem para o sabor.

A Equação 3.1 apresenta o modelo matemático de primeira ordem para o sabor de acordo com os coeficientes de regressão calculados. Verificou-se que somente a constante e o coeficiente de regressão para o tempo de retenção (t) foram significativos em um limite de 95% de confiança.

$$\text{Sabor} = 5{,}91^{*} - 0{,}10 \times (\text{T}) - 0{,}26^{*} \times (\text{t}) + 0{,}14 \times (\text{T} \times \text{t}) \qquad \text{(Eq. 3.1)}$$

Em que:

T = temperatura de pasteurização

t = tempo de retenção.

* efeito significativo.

As Figuras 3.12 e 3.13 ilustram a superfície de resposta e a curva de contorno para o sabor, respectivamente, mostrando que quanto menor o tempo de retenção, independentemente da temperatura (na faixa estudada), maior a aceitação sensorial. Mesmo resultado foi encontrado por Torre e colaboradores (2003) em estudo de pasteurização de suco de laranja utilizando diferentes binômios tempo x temperatura.

No caso da bebida isotônica, o maior tempo de retenção pode ter favorecido a geração de compostos menos agradáveis ao paladar e depreciando, desta forma, o sabor da bebida.

Figura 3.12: Superfície de resposta para aceitação do sabor em função da temperatura de pasteurização e do tempo de retenção empregados no processamento do isotônico.

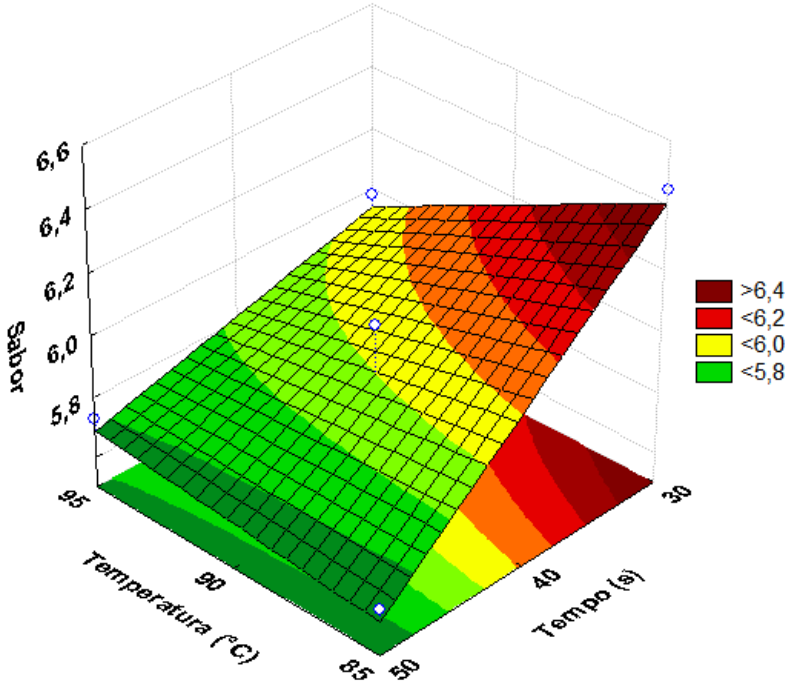
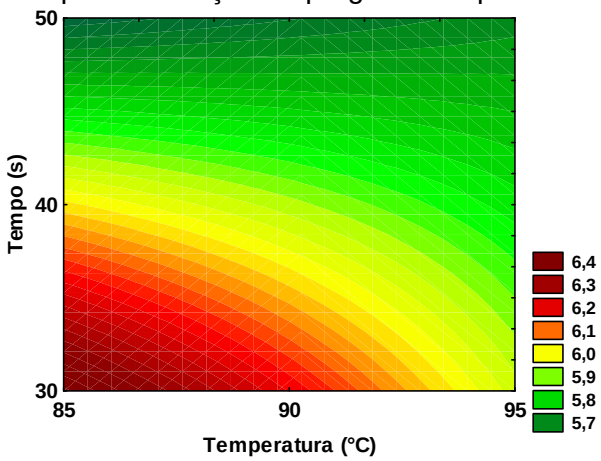


Figura 3.13: Curva de contorno para aceitação do sabor em função da temperatura de pasteurização e do tempo de retenção empregados no processamento do isotônico.



Não foram encontrados estudos na bibliografia consultada que abordassem o efeito da aplicação de diferentes binômios tempo x temperatura no processamento de isotônicos para eventuais comparações.

3.5 CONCLUSÕES

Concluiu-se que a combinação de tecnologias aplicadas no processamento e no acondicionamento da bebida isotônica revelou-se eficiente para todos os binômios tempo x temperatura investigados, uma vez que houve significativa redução da carga microbiana inicial, além de se obter uma bebida com boa aceitação sensorial e em conformidade com os padrões de identidade estabelecidos pela legislação vigente. Concluiu-se ainda que o tempo de retenção, empregado na pasteurização, foi o efeito significativo no sabor do produto.

3.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 19th ed. Arlington: AOAC, 2012.

ASTM – AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **Selected ASTM standards on packaging**. 5 ed. ASTM, West Conshohocken, 1999.

BRASIL. Resolução nº 18, de 27 de setembro de 2010. Aprovação, regulamento técnico, alimento para praticante de atividade física, atleta profissional, composição dos alimentos, rotulagem, suplemento alimentar. **Diário Oficial da União**, Seção I, p. 211, 2010.

CHÁVEZ, J.E.T. **Utilización del ultrafiltrado de suero pasteurizado del queso para el desarrollo de una bebida isotónica**, 2001. Disponível em: < http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1332/1/T1263.pdf>. Acessado em: 27 jan 2015.

CORSO, S.; PADILHA, D.M.P.; CORSO, A.C.; HUGO, F.N. Avaliação do potencial erosivo de sucos de frutas artificiais em pó, refrigerantes, isotônicos e chás enlatados disponíveis comercialmente no Brasil. **Revista da Faculdade de Odontologia**, Passo Fundo, v.11, n.1, p.45-50, 2006.

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

EARLY, R. **Tecnología de los Productos Lácteos**. Zaragoza: Acribia, ed. 2, p. 459, 2000.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial & Gráficos, ed. 2, p.175, 2001.

FONTES, E.A.F.; ALVES, Y.P.C.; FONTES, P.R.; MINIM, V.P.R. Bebida eletrolítica a base de permeado da ultrafiltração de leite: avaliação física, química e microbiológica durante o armazenamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.2, p.342-348, 2015.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

GEREMIAS-ANDRADE, I. M. **Estimativa da vida de prateleira de caldo de cana padronizado estocado sob refrigeração**. 2014. 162p. Dissertação (Mestre em Ciências da Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

KRONES NEWS. **Enchimento asséptico a frio**: uma tendência. 2008. Disponível em: <http://www.krones.com.br/Boletim/Edicao73/materia7.htm>. Acessado em: 26 jan. 2015.

LANDRY, W.L.; SCHWAB, A.H.; LANCETTE, G.A. Examination of Canned Food, Capítulo 21A. In: U.S. Food and Drug Administration (FDA), **Bacteriological Analytical Manual Online**. 2001. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm109398.htm >. Acessado em: 28 jan. 2015.

LEISTNER, L.; GORRIS, G. M. **Food preservation by hurdle technology**. Trends in Food Science & Technology, Kidlington, v. 6, p. 41-46, 1995.

LEVI, A.; GAGEL, S.; JUVEN, B. J. **Intermediate-moisture tropical fruit products for developing countries**. II. Quality characteristics of papaya. Journal of Food Technology, West Sussex, v. 20, p. 163, 1985.

MONTEIRO, M; DE MARCHI, R. **Bebidas isotônicas.** In Bebidas não alcoólicas – Ciência e Tecnologia. Cap5. Ed Blucher. 2010.

PADULA, M.; SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; ARDITO, E.F.G.; GARCIA, E.E.C.; OLIVEIRA, L.M.; ALVES, R.M.V. **Embalagens plásticas: controle de qualidade**. Campinas: ITAL, 1989.

PETRUS, R.R. **Desenvolvimento de processo e avaliação de estabilidade de bebida isotônica acondicionada em garrafa plástica asséptica**. 2000. 122p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

PETRUS, R.R.; FARIA, J.A.F. Processamento e avaliação de estabilidade de bebida isotônica em garrafa plástica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.3, p.518-524, 2005.

PHILPOT, W.N.; NICKERSON, S.C. **Vencendo a luta contra a mastite**. São Paulo: Milkbizz, p.188, 2002.

RODRIGUES, M.I.; IEMMA, A.F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. Campinas: Casa do Pão, 2005.

SANSONETTI, S.; CURCIO, S.; CALABRÒ, V.; IORIO, G. Bio-ethanol production by fermentation of ricotta cheese whey as an effective alternative non-vegetable source. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v.33, n.12, p.1687-1692, 2009.

SANTOS, E.S.M.; ALVES, R.M.; LIMA, C.S. Elaboração tecnológica e aceitação sensorial de bebida isotônica orgânica de tangerina (*Citrus reticulada* Blanco). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.72, n.1, p.87-92, 2013.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. São Paulo: Varela, 4ª ed. 2010, 624p.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 3 ed. London: Academic Press, 2004.

TORRE, J.C.M.D.; RODAS, M.A.B.; BADOLATO, G.G.; TADINI, C.C. Perfil sensorial e aceitação de suco de laranja pasteurizado minimamente processado. **Food Science and Technology**, Campinas, v.23, n.2, p.105-111, 2003.

WELTI-CHANES, J.; VERGARA-BALDERAS, F.; LOPEZ-MALO, A. **Minimally processed foods: state of the art and future**. In: FITO, P.; ORTEGA-RODRIGUEZ, E.; BARBOSA-CANOVAS, G. V. Food engineering. New York: Chapman and Hall, 2000. cap.11, p. 181-212.

Capítulo 4

ESTABILIDADE DO SUPLEMENTO HIDROELETROLÍTICO COM SORO DE RICOTA

RESUMO

As bebidas isotônicas prontas para consumo disponíveis no mercado nacional são comercialmente esterilizadas, o que possibilita a sua estocagem a temperatura ambiente. O objetivo do estudo descrito neste capitulo foi avaliar a esterilidade comercial e estimar a vida útil da bebida isotônica processada (Capítulo 3). Para este fim, foram realizados sete processamentos, segundo um delineamento fatorial 2^2 acrescido de três ensaios no ponto central, sendo os binômios (tempo x temperatura) empregados na pasteurização, os fatores estudados, a saber: 85 °C/30 s, 85 °C/50 s, 95 °C/30 s, 95 °C/50 s e 90 °C/40 s (ponto central). Um terço das embalagens em cada lote processado foi estocado a -18 °C (amostras controle) e dois terços estocados a 25 °C, na ausência de luz. Realizaram-se testes de esterilidade comercial, testes físico-químicos para determinação do pH, da acidez titulável, do teor de sólidos solúveis e de parâmetros de cor instrumental. Testes sensoriais de Escala Hedônica foram aplicados para estimar a estabilidade sensorial do produto, adotando-se médias de notas para impressão global iguais ou superiores a 5 e porcentagens de aceitação iguais ou superiores a 60% como valores-limite para aceitação da bebida. Dentre os sete processamentos realizados, apenas os lotes 3 (95 °C/50 s), 4 (90 °C/40 s) e 5 (85 °C/30 s) alcançaram a esterilidade comercial e tiveram seus tempos de vida útil, limitados pela depreciação sensorial, estimados em 100, 128 e 153 dias, respectivamente, acondicionados em garrafas de PET pigmentadas na cor branca (TiO_2). Os tempos de vida útil estimados para os lotes dos processamentos 2 (95 °C/30 s), 6 (85 °C/50 s) e 7 (90 °C/40 s) foram equivalentes a 70, 42 e 42 dias, respectivamente, tendo sido limitado pelo desenvolvimento de micro-organismos, que resultou em alterações na aparência da bebida e no estufamento de algumas embalagens. O lote 1, processado a 90 °C/40 s teve sua vida útil estimada em 128 dias devido ao término das amostras. As tecnologias de processamento e envase aplicadas no presente estudo foram parcialmente eficientes na obtenção de uma bebida isotônica comercialmente esterilizada. O tempo de retenção e a temperatura de pasteurização não apresentaram efeito significativo para os testes físico-químicos e para a impressão global, nos tempos inicial e final da vida útil da bebida. Concluiu-se, finalmente, que os tempos de vida útil dos lotes que alcançaram a esterilidade comercial foram limitados pela depreciação sensorial do produto.

Palavras-chave: esterilidade comercial, vida útil, análise sensorial.

ABSTRACT

The sports drinks available to the domestic consumer market are commercially sterilized (long life), which allows their storage at ambient temperature. This study evaluated the commercial sterility and the shelf life of the processed sports drink (Chapter 3). For this purpose, seven batches were performed according to a factorial design 2^2. Different binomials, holding time x pasteurization temperature, were tested as follows: 85 °C/30 s, 85 °C/50 s, 95 °C/30 s, 95 °C/50 s e 90 °C/40 s (central point). The end product was aseptically filled into white pigmented (TiO_2) polyethylene terephthalate (PET) bottles with a volume capacity of 330 mL and hermetically sealed with polypropylene screw lids (PP) with aluminum seals by electromagnetic induction. One third of the packages produced in each batch was stored at -18 °C (control samples) and two thirds stored at 25 °C in the dark. Commercial sterility tests, measurements of pH, titratable acidity, soluble solids content and color parameters were carried out. Nine-point Hedonic Scale tests were used to estimate the sensory stability of the product. Average scores equivalent to 5 and percentage of approval of 60% were both used as threshold values. Only batches 3 (95 °C/50 s), 4 (90 °C/40 s) and 5 (85 °C/30 s) achieved the commercial sterility and had their shelf lives limited by sensory depreciation, estimated at 100, 128 and 153 days, respectively, stored at 25 ± 1 ºC in the dark. Batch 1 (90 °C/40 s) achieved a shelf life of 128 days. The shelf lives of batches 2 (95 °C/30 s), 6 (85 °C/50 s) and 7 (90 °C/40 s) were 70, 42 and 42 days respectively; they were limited by the growth of micro-organisms. Neither the holding time nor the pasteurization temperature had significant effects on both physicochemical parameters and sensory acceptance regarding the beginning and the end of the study. The technologies applied in this study were partially effective in achieving a commercially sterilized drink.

Keywords: Commercial sterility, shelf life.

4.1 INTRODUÇÃO

A esterilidade comercial de alimentos é descrita como a condição atingida pela aplicação de calor suficiente para tornar o produto isento de micro-organismos capazes de se desenvolver no alimento, em condições de estocagem e distribuição não refrigeradas, incluindo células vegetativas e esporuladas de patógenos; ou pela aplicação combinada de calor e redução de pH ou calor e redução de atividade de água suficientes para tornar o alimento isento de micro-organismos capazes de se desenvolver no produto, sob estocagem não refrigerada (FRANCO; LANDGRAF, 2008; SILVA et al., 2010). É importante considerar que a temperatura de estocagem não deve ultrapassar 40 °C, uma vez que os esporos termofílicos não são alvos da esterilização comercial de alimentos. Outro aspecto a salientar é que as tecnologias de processamento não térmicas, a exemplo da ultrafiltração, também podem ser empregadas na produção de alimentos comercialmente esterilizados.

A expressão vida útil ou vida de prateleira, conhecida também como *shelf life*, pode ser traduzida como o período de tempo em que o alimento pode ser conservado, em determinadas condições de temperatura, de umidade relativa, de luz, de composição gasosa etc, sofrendo alterações consideradas aceitáveis pelo fabricante, pelo consumidor e pela legislação alimentar vigente. Portanto, determinar a vida útil de um alimento é estimar o momento em que o seu consumo torna-se impróprio, do ponto de vista de qualidade e de segurança (ASTM, 2005).

A expansão comercial de um produto alimentício é influenciada pela vida útil do mesmo, já que o consumo do alimento não é realizado imediatamente ao seu processamento. O aumento da vida útil pode se dar através da incorporação de aditivos químicos, da acidificação, da refrigeração, do congelamento ou por tratamentos térmicos brandos, como por exemplo, a pasteurização (ALVES; GARCIA, 1993; MAO; XU; QUE, 2007).

A vida útil de um alimento é determinada basicamente por meio de testes físico-químicos, enzimáticos, microbiológicos e sensoriais (IFST, 1993). Neste sentido, a análise sensorial para testes de vida útil tem se mostrado como uma técnica interessante no monitoramento da qualidade de bebidas durante a estocagem.

O término da vida útil de um alimento pode se dar através do aumento ou diminuição na magnitude do valor médio de uma determinada característica sensorial do produto, podendo ser utilizados métodos sensoriais de diferença, descritivos e afetivos (MORI, 2002; HOUGH, 2010).

A qualidade e estabilidade de bebidas são afetadas por reações oxidativas que dependem das condições do processo, presença de oxigênio no espaço livre da embalagem ou dissolvido no produto, taxa de permeabilidade a gases da embalagem e tempo e temperatura de estocagem (GRAUMICH; MARCY; ADAMS, 1986; ALVES;GARCIA, 1993). A estabilidade microbiológica é conhecida como efeito obstáculo. A tecnologia dos obstáculos permite a melhoria da segurança e qualidade nos alimentos nos quais este princípio é aplicado (SANKHLA et al., 2012), como por exemplo, diminuição do pH, tratamento térmico e o acondicionamento asséptico em embalagens hermeticamente seladas.

De acordo com Krones News (2008), a tecnologia de acondicionamento asséptico possibilita o envase de produtos sensíveis à contaminação microbiana, como sucos e bebidas derivadas do leite, permitindo que estes sejam isentos de conservadores químicos e comercializados sem o uso da cadeia do frio, barateando desta maneira, o custo final do produto.

Os isotônicos prontos para consumo disponíveis para venda são comercialmente esterilizados, ou seja, são comercializados sem a utilização da cadeia do frio e apresentam vida útil média de 6 meses. Não foram encontrados dados na literatura acerca de estudos sobre a esterilidade comercial em bebidas isotônicas elaboradas com soro de ricota.

4.2 OBJETIVOS

Os objetivos do estudo descrito no presente capítulo consistiram na avaliação da esterilidade comercial e na estimativa do tempo de vida útil da bebida isotônica desenvolvida com soro de ricota.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

Conforme descrito nos itens 3.3.1 e 3.3.2 do Capítulo 3, realizaram-se sete processamentos da bebida isotônica, cuja estabilidade microbiológica, descrita a seguir, foi avaliada.

4.3.1 Teste de esterilidade comercial

O teste de esterilidade comercial iniciou-se com a incubação do lote recém-processado a 25 °C por 10 dias (Figura 4.1), na ausência de luz, conforme metodologia estabelecida pela *American Public Health Association* (APHA) para alimentos ácidos (pH < 4,6) e descrita por Silva e colaboradores (2010).

Após o referido período de estocagem, cinco amostras aleatórias da bebida isotônica foram submetidas a inspeção visual com o intuito de avaliar a integridade das embalagens após o período de incubação (ausência de vazamento e estufamento). Observou-se a cor, o odor, o sabor e outras alterações físico-sensoriais eventualmente perceptíveis.

Foram realizados também testes microbiológicos em cinco amostras. Para este fim, foram feitos plaqueamentos em profundidade (em duplicata) em Ágar Thermoacidurans (TAA) em condições de aero e anaerobiose (utilizando uma jarra com um gerador de atmosfera de anaerobiose), em Ágar Dextrose Batata acidificado (PDA) e em Ágar All Purpose Tween (APT).

Figura 4.1: Amostras da bebida isotônica incubadas em câmara BOD a 25 °C.

4.3.2 Determinação do pH após o período de incubação

Cinco amostras foram tomadas aleatoriamente, após a incubação a 25 °C por 10 dias, para leitura do pH.

De acordo Cerf (1988), o conceito de estabilidade para leite longa vida pressupõe flutuações no pH do produto inferiores a 0,2. Como não foram localizadas referências na literatura para produtos de alta acidez (pH ≤ 4,6), considerou-se a mesma variação de pH como valor de referência para avaliação da bebida isotônica desenvolvida, cujo pH final foi próximo a 3,0.

4.3.3 Estimativa da vida útil

Para determinação da vida útil do suplemento hidroeletrolítico foram realizados testes microbiológicos, sensoriais e físico-químicos.

4.3.3.1 Testes microbiológicos

Para atestar que os lotes de bebida isotônica estavam aptos à análise sensorial, três amostras (estocadas a 25 °C) foram submetidas a contagem de bactérias mesófilas aeróbias dois dias antes de cada sessão, realizada mensalmente.

Os testes microbiológicos foram realizados no Laboratório de Bioprocessos, no Departamento de Engenharia de Alimentos da FZEA/USP e seguiram metodologia descrita por Silva e colaboradores (2010).

Adicionou-se 1 mL da bebida isotônica em placa de petri e em seguida, ágar para contagem padrão em placas (PCA) (Oxoid, Basingstoke, Reino Unido) previamente fundido e resfriado a aproximadamente 45 °C. As placas foram incubadas a 37 °C por 48 horas.

Caso a embalagem apresentasse sinais de estufamento, em decorrência da produção de gás, ou a bebida apresentasse indícios de deterioração, a avaliação sensorial com provadores era suspensa e a vida útil estimada considerando-se a data da última sessão de análise sensorial em que a bebida apresentava-se apta para o consumo.

4.3.3.2 Testes sensoriais

Testes sensoriais de Escala Hedônica Estruturada de nove pontos foram aplicados para avaliação do sabor, com base em procedimentos descritos por Stone e Sidel (2004) e Ferreira et al. (2000). Uma amostra controle, estocada a -18 °C foi introduzida como controle. Os testes foram conduzidos no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Engenharia de Alimentos da FZEA/USP.

As sessões de análise sensorial iniciaram-se 15 dias após o processamento, considerando-se este o tempo zero do estudo, uma vez que os lotes foram incubados a 25 °C/10 dias, demandando-se mais cinco dias para finalização dos testes microbiológicos (teste de esterilidade comercial). Tendo iniciado a avaliação sensorial, as sessões foram realizadas com frequência mensal.

Foram recrutados 60 consumidores regulares de isotônicos não treinados, sendo estes, alunos de graduação, pós-graduação e funcionários da FZEA, com faixa etária compreendida entre 17 e 50 anos.

Em cada análise sensorial, os provadores receberam duas amostras simultaneamente: a controle (identificada com um P de amostra padrão) e a codificada (com números aleatórios de três dígitos). As amostras controle foram congeladas a -18 °C logo após o processamento (descrição no item 3.3.2, no Capítulo 3), e descongeladas sob refrigeração (4 °C) por 48 horas antes do início da análise sensorial. As amostras codificadas foram estocadas em câmeras BOD a 25 °C logo após o processamento (descrição no item 3.3.2, no Capítulo 3) e 24 horas antes do início da análise sensorial, as amostras eram colocadas sob refrigeração (4 °C).

Cada provador recebeu aproximadamente 30 mL de cada amostra, servidas a 4 °C, acompanhadas por um copo de água e pela ficha de avaliação (Apêndice D).

Para determinar a estabilidade sensorial da bebida, adotou-se o valor 5 (nem gostei/nem desgostei) da Escala Hedônica de nove pontos, como média de corte. Como critério complementar, estabeleceu-se uma porcentagem de aceitação superior a 60%.

A execução dos testes sensoriais foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FZEA/USP (Parecer n° 359.879).

4.3.3.3 Testes físico-químicos

Paralelamente à análise sensorial, foram realizados testes físico-químicos, tanto nas amostras controle quanto nas codificadas, de acordo com as metodologias da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2012).

Determinaram-se os parâmetros de cor instrumental (MiniScanEZ 4500L, HunterLab, Reston, USA), o teor de sólidos solúveis (refratômetro portátil digital Reichert modelo AR 200), o pH (pHmetro Analyser modelo 300 M) e a acidez titulável (titulação com NaOH 0,1 M, sendo o ponto de viragem aquele o qual o pH atingiu o valor de 8,3).

As amostras controle foram descongeladas sob refrigeração (4 °C) 48 horas antes de se realizarem as análises físico-químicas.

As amostras codificadas foram analisadas quinzenalmente (triplicata) e as controle, mensalmente (duplicata), concomitantemente à análise sensorial.

4.3.4 Análise estatística dos resultados

Os resultados das análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, com 95% de confiança, para comparação de médias. Os dados foram processados por meio do programa SAS 9.2.

Os resultados gerados a partir do delineamento fatorial foram submetidos à ANOVA e utilizados na construção de diagramas de Pareto, a um nível de 5% de significância. Os dados foram processados por meio do programa Statistica 7.

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1 Avaliação da Esterilidade Comercial

4.4.1.1 Determinação do pH

A variação do pH é uma informação complementar útil para avaliação da esterilidade comercial, pois o desenvolvimento de micro-organismos acarreta, frequentemente, alterações no pH do produto. De acordo com Cerf (1988), o conceito de estabilidade pressupõe flutuações no pH do produto iguais ou inferiores a 0,2. A Tabela 4.1 apresenta as variações de pH observadas para cada lote após 10 dias de incubação a 25 °C, na ausência de luz.

Tabela 4.1: Valores de pH da bebida isotônica.

Processamento	pH do isotônico recém-processado	pH do isotônico após 10 dias de incubação a 25 °C	$\lvert\Delta pH\rvert$
P1 (90 °C/40 s)	3,13	3,04	0,09
P2 (95 °C/30 s)	3,11	3,17	0,06
P3 (95 °C/50 s)	3,08	3,00	0,08
P4 (90 °C/40 s)	3,11	3,19	0,08
P5 (85 °C/30 s)	3,03	2,98	0,05
P6 (85 °C/50 s)	3,21	3,02	0,19
P7 (90 °C/40 s)	2,97	3,00	0,03

Os valores de pH apresentados na Tabela 4.1 classificam o isotônico desenvolvido como uma bebida de alta acidez (pH ≤ 4,6). Tal característica favorece a estabilidade microbiológica do produto porque restringe sobremaneira o

desenvolvimento de micro-organismos deteriorantes e potencialmente patogênicos. As variações observadas entre os valores de pH para diferentes processamentos podem ser atribuídas a utilização de matéria-prima (soro de ricota) obtida em diferentes estágios da pesquisa.

As variações de pH (|ΔpH|) calculadas indicaram a estabilidade físico-química e, aparentemente, microbiológica do produto, uma vez que foram inferiores a 0,2 unidades após o período de incubação das amostras.

4.4.1.2 Testes microbiológicos

A Tabela 4.2 indica a ausência/presença de micro-organismos nos meios de cultura utilizados para o teste de esterilidade comercial.

Tabela 4.2: Resultados do teste de esterilidade comercial da bebida isotônica (continua).

Processamento	Amostra	TAA (aeróbio)	PDA acidificado	APT	TAA (anaeróbio)	Diagnóstico da amostra
1	1	+	+	+	-	N C E
	2	+	+	+	+	N C E
	3	+	-	+	-	N C E
	4	+	-	+	-	N C E
	5	+	-	+	-	N C E
2	1	-	+	-	-	N C E
	2	+	-	+	-	N C E
	3	-	+	+	-	N C E
	4	+	-	-	-	N C E
	5	-	+	+	-	N C E
3	1	-	-	-	-	C E
	2	-	-	-	-	C E
	3	-	-	-	-	C E
	4	-	-	-	-	C E
	5	-	-	-	-	C E
4	1	-	-	-	-	C E
	2	-	-	-	-	C E
	3	-	-	-	-	C E
	4	-	-	-	-	C E
	5	-	-	-	-	C E
5	1	-	-	-	-	C E
	2	-	-	-	-	C E
	3	-	-	-	-	C E
	4	-	-	-	-	C E
	5	-	-	-	-	C E

TAA: ágar thermoacidurans. PDA: ágar dextrose batata. APT: ágar all purpose tween. (+) desenvolvimento microbiano (-) ausência de desenvolvimento. NCE: amostra não comercialmente esterilizada; CE: amostra comercialmente esterilizada.

Tabela 4.2: Resultados do teste de esterilidade comercial da bebida isotônica (conclusão).

Processamento	Amostra	TAA (aeróbio)	PDA acidificado	APT	TAA (anaeróbio)	Diagnóstico da amostra
6	1	+	+	-	-	N C E
	2	-	-	+	-	N C E
	3	-	-	+	-	N C E
	4	+	+	+	-	N C E
	5	-	-	-	-	C E
7	1	-	-	-	-	C E
	2	+	-	-	-	N C E
	3	+	+	+	+	N C E
	4	+	+	+	+	N C E
	5	-	-	-	-	C E

TAA: ágar thermoacidurans. PDA: ágar dextrose batata. APT: ágar all purpose tween. (+) desenvolvimento microbiano (-) ausência de desenvolvimento. NCE: amostra não comercialmente esterilizada; CE: amostra comercialmente esterilizada.

Os resultados mostrados na Tabela 4.2 indicam que as amostras dos lotes obtidos nos processamentos 3, 4 e 5 não apresentaram contaminação, considerados, portanto, comercialmente esterilizados. Os processamentos 6 e 7 apresentaram, respectivamente, 1 e 2 amostras nas quais não foi observado desenvolvimento microbiano. Em contrapartida, todas as amostras dos processamentos 1 e 2, apresentaram-se contaminadas.

Geralmente, as taxas máximas de unidades defeituosas aceitáveis, taxa de não esterilidade, variam entre 1:10.000 e 1:100.000 (VON BOCKELMANN, 1976). Como os lotes processados foram sempre inferiores a 200 embalagens, considerou-se que a identificação de uma única amostra contaminada, classificaria o lote como “não comercialmente esterilizado”.

A Tabela 4.3 indica as alterações aparentes e o diagnóstico final relativos a cada lote processado.

Tabela 4.3: Resultados do teste de esterilidade comercial em bebida isotônica desenvolvida a partir de soro de ricota.

Processamento	Alteração aparente	Diagnóstico final do lote
1 (90 °C/40 s)	-	não comercialmente esterilizado
2 (95 °C/30 s)	aroma alterado	não comercialmente esterilizado
3 (95 °C/50 s)	-	comercialmente esterilizado
4 (90 °C/ 40 s)	aroma alterado	comercialmente esterilizado
5 (85 °C/30 s)	-	comercialmente esterilizado
6 (85 °C/50 s)	-	não comercialmente esterilizado
7 (90 °C/40 s)	aroma alterado	não comercialmente esterilizado

- : sem alteração aparente.

Como se pode verificar na Tabela 4.3, apesar de ter sido identificada uma amostra no lote 4 com aroma alterado, esta não apresentou contaminação ao ser submetida aos testes microbiológicos. Este resultado sugere a ocorrência de mecanismos de alteração de outra natureza (química ou bioquímica). Por outro lado, as amostras dos lotes 1 e 6, apesar de não apresentarem alterações aparentes visíveis, estavam contaminadas. Contudo, não foi observado estufamento nas embalagens em nenhum dos sete lotes processados durante os testes de esterilidade comercial.

Os resultados da Tabela 4.3 ainda revelam que o binômio tempo x temperatura não exerceu influência na esterilidade comercial dos lotes, uma vez que aqueles processados em toda a faixa de binômios estudados (P1, P2, P6 e P7) não alcançaram a esterilidade comercial. Estes resultados sugerem uma provável recontaminação durante o envase da bebida ou decorrente de falhas na descontaminação das embalagens. Contudo, estas possíveis causas de recontaminação não foram investigadas neste estudo.

Salienta-se que não foram localizados na literatura científica consultada dados relativos a testes de esterilidade comercial em bebidas isotônicas elaboradas com soro de ricota, impedindo, portanto, a comparação de resultados.

4.4.2 Testes microbiológicos complementares

Para avaliar a estabilidade microbiológica do produto no transcorrer do estudo de vida útil, especialmente para os lotes que não alcançaram a esterilidade comercial, realizaram-se contagens de bactérias mesófilas aeróbias, uma vez que o desenvolvimento destas foi adotado como critério para estudo da estabilidade microbiológica da bebida estocada a 25 °C. Lewis e colaboradores (2004) sugerem o valor de $2{,}0 \times 10^4$ UFC/mL como nível máximo de contaminação de bactérias mesófilas aeróbias em produtos lácteos pasteurizados.

Não foram realizadas análises estatísticas dos dados das contagens microbianas devido ao fato de alguns lotes apresentarem estufamento da embalagem e com presença de grumos, o que dificultou a análise microbiológica. Ademais, muitos resultados foram apresentados com valores estimados, por conta dos limites de sensibilidade inerentes às técnicas de plaqueamento. Os resultados obtidos na contagem de bactérias mesófilas aeróbias no isotônico estocado a 25 °C estão apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4: Médias das contagens de bactérias mesófilas aeróbias na bebida isotônica estocada a 25 °C.

Processamento	Estocagem (dias)	Médias (UFC/mL)
1	15	< 1,0 (est)
	43	< 1,0 (est)
	70	< 1,0 (est)
	99	3,3 ± 1,0 (est)
	128	$1,1x10^1$ ± 2,1 (est)
2	16	< 1,0 (est)
	43	1,7 ± 0,8 (est)
	70	2,3 ± 1,3 (est)
	98	*
3	15	< 1,0 (est)
	44	< 1,0 (est)
	70	< 1,0 (est)
	100	< 1,0 (est)
	126	< 1,0 (est)
4	15	< 1,0 (est)
	44	< 1,0 (est)
	71	< 1,0 (est)
	99	< 1,0 (est)
	128	< 1,0 (est)
	160	< 1,0 (est)
5	15	< 1,0 (est)
	42	< 1,0 (est)
	71	< 1,0 (est)
	100	< 1,0 (est)
	121	< 1,0 (est)
	153	< 1,0 (est)
	182	< 1,0 (est)
6	15	< 1,0 (est)
	42	6,0 ± 1,3 (est)
	70	*
7	16	< 1,0 (est)
	42	$1,1x10^1$ ± 2,6 (est)
	72	*

*: amostras com degradação microbiológica aparente. (est) = valor estimado.

Os resultados da Tabela 4.4 mostram que os lotes dos processamentos 3, 4 e 5, comercialmente esterilizados, não apresentaram contaminação durante 126, 160 e 182 dias, período de estocagem do isotônico. Porém, as análises foram interrompidas por conta da depreciação da qualidade sensorial do produto, constatada pelos testes sensoriais (item 4.4.4.1).

Os obstáculos que favoreceram a estabilidade microbiológica da bebida abrangem o pH ácido (≈ 3,1), a pasteurização e o envase asséptico em garrafas previamente descontaminadas e hermeticamente seladas.

As análises do processamento 1 foram interrompidas com 128 dias de estocagem, pois já não haviam amostras suficientes para que o próximo teste sensorial e microbiológico fosse realizado. Vale ressaltar que as amostras do processamento ainda se apresentavam viáveis para consumo.

Apesar das amostras dos lotes 2, 6 e 7 apresentarem contagens bastante inferiores a $2{,}0x10^4$ UFC/mL (LEWIS et al., 2004) no 70º dia para o lote 2 e no 42º dia para os lotes 6 e 7, pôde-se estimar a vida útil da bebida isotônica por meio de uma inspeção visual, constatando-se em algumas amostras sinais evidentes de deterioração (formação de gás e presença de grumos).

De acordo com Silva e colaboradores (2010), alimentos ácidos restringem o desenvolvimento microbiano a uma pequena gama de micro-organismos, devido ao seu pH restritivo. Dentre estes estão bolores, leveduras, bactérias láticas e acidúricas.

Baixas contagens de bactérias mesófilas aeróbias também foram observadas por De Marchi, Monteiro e Cardello (2003) em isotônico natural de maracujá, por Petrus e Faria (2005) em bebida isotônica sabor laranja, por Santos, Alves e Lima (2013) em bebida isotônica orgânica de tangerina e por Fontes e colaboradores (2015) em bebida eletrolítica a base de permeado da ultrafiltração do leite. Em contrapartida, Chávez (2001) obteve um nível de contaminação de $6{,}5x10^6$ em bebida isotônica com permeado de ultrafiltração de leite sabor morango estocada por 15 dias a temperatura ambiente e Martins et al. (2011) (bebida isotônica com suco concentrado de frutas e hortaliças) encontraram valores de $6{,}5x10^2$ para a bebida estocada por 15 dias e $1{,}7x10^6$ para 30 dias de estocagem, ambas sob congelamento (-18 °C).

4.4.3 Análises físico-químicas da bebida isotônica

As análises de pH, de acidez titulável, de sólidos solúveis e a medida de cor instrumental foram realizadas com o objetivo de se avaliar/mensurar eventuais variações na bebida durante o período de estocagem a 25 °C.

De acordo com Macedo (2001), a acidez titulável e o pH em determinados alimentos são indicativos do seu grau de deterioração, ou seja, fornecem informações importantes para verificar o estado de conservação de um produto.

As análises físico-químicas foram interrompidas quando as amostras analisadas atingiram os critérios de corte estabelecidos para os testes microbiológicos e/ou sensoriais. Os resultados das análises físico-químicas para pH, acidez titulável e sólidos solúveis encontram-se na Tabela 4.5 e os parâmetros de cor (*L**, *a** e *b**) encontram-se na Tabela 4.6.

Tabela 4.5: Resultados das análises de sólidos solúveis, de pH e de acidez titulável para a bebida isotônica processada (continua).

Tempo de estocagem (dias)	Sólidos solúveis (°Brix)		pH		Acidez (g de ácido cítrico/100 mL)	
	Amostra controle	Amostra codificada	Amostra controle	Amostra codificada	Amostra controle	Amostra codificada
Processamento 1 (90 °C/40 s)						
1	-	6,30 a ± 0,00	-	3,13 cd ± 0,00	-	0,298 e ± 0,001
15	6,30 A ± 0,00	6,20 Ab ± 0,00	3,13 A ± 0,00	3,12 Ad ± 0,02	0,298 A ± 0,001	0,299 Ae ± 0,002
28	-	6,30 a ± 0,00	-	3,15 cd ± 0,01	-	0,303 de ± 0,003
41	6,25 A ± 0,07	6,27 Aab ± 0,06	3,13 A ± 0,03	3,12 Ad ± 0,03	0,300 B ± 0,001	0,310 Acd ± 0,002
57	-	6,30 a ± 0,00	-	3,18 bc ± 0,01	-	0,310 cd ± 0,001
69	6,25 A ± 0,07	6,23 Aab ± 0,06	3,18 A ± 0,01	3,27 Aa ± 0,05	0,310 B ± 0,001	0,317 Abc ± 0,002
85	-	6,30 a ± 0,00	-	3,26 a ± 0,01	-	0,319 abc ± 0,001
99	6,20 A ± 0,00	6,27 Aab ± 0,06	3,27 A ± 0,01	3,26 Aa ± 0,02	0,309 A ± 0,001	0,322 Aab ± 0,007
114	-	6,20 b ± 0,00	-	3,22 ab ± 0,01	-	0,329 a ± 0,004
128	6,25 A ± 0,07	6,27 Aab ± 0,06	3,25 A ± 0,01	3,27 Aa ± 0,02	0,311 A ± 0,001	0,321 Aab ± 0,007
Processamento 2 (95 °C/30 s)						
1	-	6,40 a ± 0,00	-	3,11 b ± 0,00	-	0,291 c ± 0,002
15	6,40 A ± 0,00	6,43 Aa ± 0,06	3,13 B ± 0,00	3,18 Aa ± 0,01	0,295 A ± 0,001	0,296 Ac ± 0,005
29	-	6,40 a ± 0,00	-	3,19 a ± 0,01	-	0,309 b ± 0,003
43	6,40 A ± 0,00	6,33 Aa ± 0,06	3,13 A ± 0,00	3,13 Ab ± 0,01	0,294 B 0,002	0,306 Ab ± 0,002
58	-	6,40 a ± 0,00	-	3,16 a ± 0,01	-	0,306 b ± 0,004
73	6,35 A ± 0,07	6,37 Aa ± 0,06	3,13 A ± 0,03	3,18 Aa ± 0,03	0,292 B 0,003	0,318 Aa ± 0,003
85	-	6,40 a ± 0,00	-	3,18 a ± 0,01	-	0,323 a ± 0,002

Os valores estão expressos em médias de três amostras juntamente com o desvio padrão.
(-) não houve análise (amostra controle analisada mensalmente).
Médias seguidas por uma mesma letra minúscula, na mesma coluna (comparação entre tempos de estocagem) e pela mesma letra maiúscula, na mesma linha (comparação entre amostras controle e codificada) não diferem entre si ($p > 0,05$).

Tabela 4.5: Resultados das análises de sólidos solúveis, de pH e de acidez titulável para a bebida isotônica processada (continuação).

Tempo de estocagem (dias)	Sólidos solúveis (°Brix)		pH		Acidez (g de ácido cítrico/100 mL)	
	Amostra controle	Amostra codificada	Amostra controle	Amostra codificada	Amostra controle	Amostra codificada
Processamento 3 (95 °C/50 s)						
1	-	6,40 a ± 0,00	-	3,08 a ± 0,03	-	0,426 f ± 0,001
14	6,40 A ± 0,00	6,40 Aa ± 0,00	3,10 A ± 0,01	2,99 Bbc ± 0,00	0,421 B ± 0,003	0,427 Af ± 0,002
27	-	6,40 a ± 0,00	-	2,91 d ± 0,04	-	0,435 ef ± 0,005
43	6,40 A ± 0,00	6,37 Aa ± 0,06	2,98 A ± 0,01	2,96 Ac ± 0,01	0,423 B ± 0,001	0,433 Aef ± 0,001
55	-	6,37 a ± 0,06	-	3,03 b ± 0,01	-	0,446 de ± 0,003
71	6,35 A ± 0,07	6,40 Aa ± 0,00	3,07 B ± 0,00	3,02 Ab ± 0,01	0,429 B ± 0,000	0,449 Acd ± 0,003
85	-	6,40 a ± 0,00	-	3,04 ab ± 0,02	-	0,452 bcd ± 0,001
100	6,40 A ± 0,00	6,40 Aa ± 0,00	3,00 A ± 0,00	3,01 Abc ± 0,00	0,423 B ± 0,001	0,464 Aab ± 0,005
114	-	6,37 a ± 0,06	-	3,02 b ± 0,01	-	0,462 bc ± 0,002
126	6,40 A ± 0,00	6,37 Aa ± 0,06	3,04 A ± 0,04	3,04 Aab ± 0,03	0,439 B ± 0,000	0,476 Aa ± 0,012
Processamento 4 (90 °C/40 s)						
1	-	6,40 a ± 0,00	-	3,11 c ± 0,00	-	0,350 e ± 0,000
15	6,40 A ± 0,00	6,40 Aa ± 0,00	3,19 B ± 0,01	3,21 Aa ± 0,01	0,352 B ± 0,000	0,358 Ad ± 0,002
29	-	6,30 a ± 0,00	-	3,17 ab ± 0,01	-	0,359 d ± 0,002
44	6,40 A ± 0,00	6,40 Aa ± 0,00	3,08 B ± 0,01	3,15 Abc ± 0,01	0,354 A 0,001	0,361 Ad ± 0,003
59	-	6,40 a ± 0,10	-	3,17 ab ± 0,05	-	0,374 c ± 0,003
71	6,40 A ± 0,00	6,37 Aa ± 0,06	3,07 B ± 0,01	3,17 Aab ± 0,02	0,362 B ± 0,001	0,373 Ac ± 0,001
84	-	6,30 a ± 0,00	-	3,16 abc ± 0,00	-	0,362 d ± 0,002
107	6,40 A ± 0,00	6,37 Aa ± 0,06	3,07 B ± 0,00	3,17 Aabc ± 0,02	0,363 B ± 0,001	0,374 Ac ± 0,002
113	-	6,37 a ± 0,06	-	3,16 abc ± 0,03	-	0,375 c ± 0,002
128	6,35 A ± 0,07	6,40 Aa ± 0,00	3,10 B ± 0,01	3,17 Aabc ± 0,01	0,359 B ± 0,007	0,387 Ab ± 0,002
141	-	6,40 a ± 0,00	-	3,17 ab ± 0,02	-	0,378 c ± 0,001
160	6,30 A ± 0,00	6,40 Aa ± 0,00	3,12 B ± 0,01	3,17 Aab ± 0,01	0,357 B ± 0,001	0,396 Aa ± 0,003

Os valores estão expressos em médias de três amostras juntamente com o desvio padrão.
- indica que não houve análise (amostra controle analisada mensalmente).
Médias seguidas por uma mesma letra minúscula, na mesma coluna (comparação entre tempos de estocagem) e pela mesma letra maiúscula, na mesma linha (comparação entre amostras controle e codificada) não diferem entre si ($p > 0,05$).

Tabela 4.5: Resultados das análises de sólidos solúveis, de pH e de acidez titulável para a bebida isotônica processada (continuação).

Tempo de estocagem (dias)	Sólidos solúveis (°Brix)		pH		Acidez (g de ácido cítrico/100 mL)	
	Amostra controle	Amostra codificada	Amostra controle	Amostra codificada	Amostra controle	Amostra codificada
Processamento 5 (85 °C/30 s)						
0	-	6,40 a ± 0,00	-	3,03 defg ± 0,01	-	0,384 g ± 0,005
14	6,40 A ± 0,00	6,40 Aa ± 0,00	2,99 A ± 0,02	2,97 Ag ± 0,01	0,391 B ± 0,001	0,400 Aefg ± 0,001
29	-	6,40 a ± 0,00	-	3,01 efg ± 0,02	-	0,396 fg ± 0,001
41	6,40 A ± 0,00	6,40 Aa ± 0,00	3,12 A ± 0,01	3,00 Bfg ± 0,01	0,396 B ± 0,001	0,409 Adef ± 0,005
57	-	6,40 a ± 0,00	-	3,10 abcd ± 0,01	-	0,417 bcd ± 0,010
71	6,30 A ± 0,00	6,40 Aa ± 0,00	3,11 A ± 0,01	3,11 Aabc ± 0,01	0,392 B ± 0,001	0,420 Abcd ± 0,004
86	-	6,37 a ± 0,06	-	3,06 cdef ± 0,00	-	0,415 cde ± 0,003
100	6,40 A ± 0,00	6,37 Aa ± 0,06	3,11 A ± 0,01	3,17 Abcde ± 0,02	0,395 B ± 0,002	0,420 Abcd ± 0,001
106	-	6,37 a ± 0,06	-	3,16 ab ± 0,02	-	0,424 bcd ± 0,005
121	6,35 A ± 0,07	6,43 Aa ± 0,06	3,09 A ± 0,00	3,17 Aabc ± 0,03	0,397 B ± 0,002	0,429 Abc ± 0,011
134	-	6,40 a ± 0,00	-	3,17 a ± 0,01	-	0,419 bcd ± 0,002
153	6,35 A ± 0,07	6,37 Aa ± 0,06	3,11 A ± 0,01	3,17 Aab ± 0,03	0,398 B ± 0,007	0,434 Aab ± 0,004
164	-	6,37 a ± 0,06	-	3,17 bcde ± 0,03	-	0,432 b ± 0,006
182	6,40 A ± 0,00	6,40 Aa ± 0,00	3,11 A ± 0,04	3,17 Acdef ± 0,07	0,402 B ± 0,006	0,450 Aa ± 0,009
Processamento 6 (85 °C/50 s)						
1	-	6,37 a ± 0,06	-	3,21 a ± 0,01	-	0,380 b ± 0,001
15	6,40 A ± 0,00	6,40 Aa ± 0,00	3,04 B ± 0,02	3,16 Ab ± 0,02	0,379 A ± 0,001	0,378 Ab ± 0,007
30	-	6,37 a ± 0,06	-	3,12 c ± 0,01	-	0,383 b ± 0,006
45	6,40 A ± 0,00	6,43 Aa ± 0,06	3,10 A ± 0,01	3,12 Ac ± 0,01	0,380 B ± 0,001	0,403 Aa ± 0,001
57	-	6,37 a ± 0,06	-	3,17 b ± 0,01	-	0,406 a ± 0,001

Os valores estão expressos em médias de três amostras juntamente com o desvio padrão.
- indica que não houve análise (amostra controle analisada mensalmente).
Médias seguidas por uma mesma letra minúscula, na mesma coluna (comparação entre tempos de estocagem) e pela mesma letra maiúscula, na mesma linha (comparação entre amostras controle e codificada) não diferem entre si ($p > 0,05$).

Tabela 4.5: Resultados das análises de sólidos solúveis, de pH e de acidez titulável para a bebida isotônica processada (conclusão).

Tempo de estocagem (dias)	Sólidos solúveis (°Brix)		pH		Acidez (g de ácido cítrico/100 mL)	
	Amostra controle	Amostra codificada	Amostra controle	Amostra codificada	Amostra controle	Amostra codificada
Processamento 7 (90 °C/40 s)						
0	-	6,40 a ± 0,00	-	2,97 d ± 0,01	-	0,424 c ± 0,002
15	6,40 A ± 0,00	6,40 Aa ± 0,00	3,00 A ± 0,01	3,00 Ac ± 0,01	0,429 A ± 0,001	0,429 Ac ± 0,005
27	-	6,40 a ± 0,00	-	3,13 a ± 0,01	-	0,437 b ± 0,002
43	6,40 A ± 0,00	6,40 Aa ± 0,00	3,10 A ± 0,01	3,10 Ab ± 0,01	0,422 B ± 0,005	0,437 Ab ± 0,001
57	-	6,37 a ± 0,06	-	3,10 b ± 0,01	-	0,451 a ± 0,002

Os valores estão expressos em médias de três amostras juntamente com o desvio padrão.
- indica que não houve análise (amostra controle analisada mensalmente).
Médias seguidas por uma mesma letra minúscula, na mesma coluna (comparação entre tempos de estocagem) e pela mesma letra maiúscula, na mesma linha (comparação entre amostras controle e codificada) não diferem entre si ($p > 0,05$).

As Figuras 4.2 a 4.7 complementam os resultados mostrados na Tabela 4.5, ilustrando as variações do pH, de acidez titulável e de sólidos solúveis durante o período de estocagem. As Figuras 4.2, 4.4 e 4.6, apresentam os resultados para os processamentos 1, 2, 6 e 7 (não comercialmente esterilizados) e as Figuras 4.3, 4.5 e 4.7, para os processamentos 3, 4 e 5 (comercialmente esterilizados).

Figura 4.2: Variação das médias dos teores de sólidos solúveis para as amostras dos processamentos (P) 1, 2, 6 e 7.

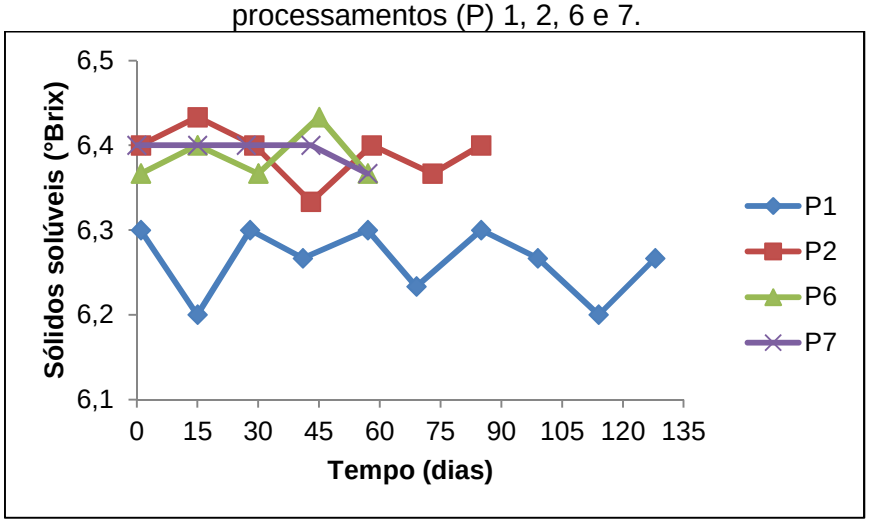


Figura 4.3: Variação das médias de sólidos solúveis para as amostras dos processamentos (P) 3, 4 e 5.

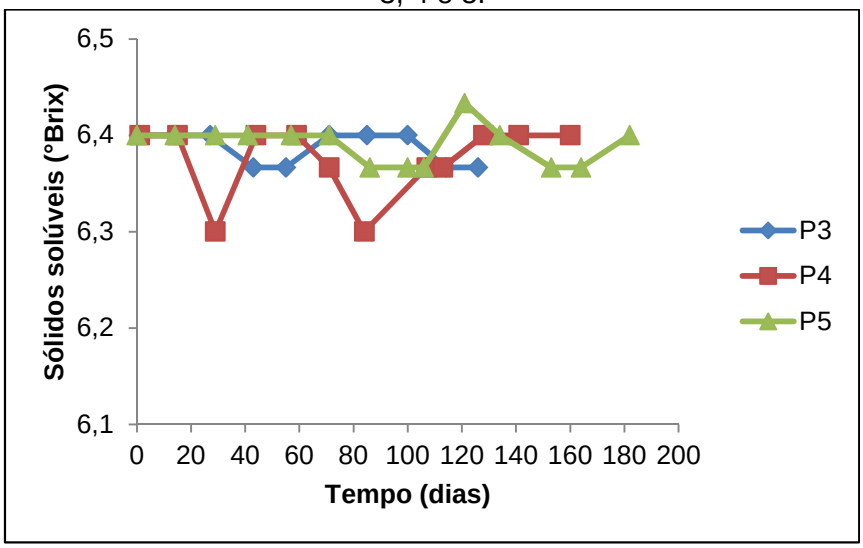


Figura 4.4: Variação das médias de pH para as amostras dos processamentos (P) 1, 2, 6 e 7.

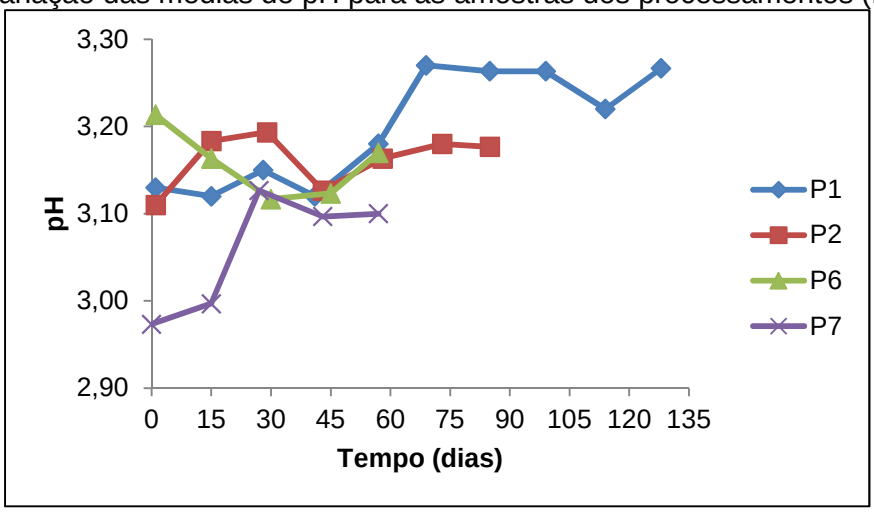


Figura 4.5: Variação das médias de pH para as amostras dos processamentos (P) 3, 4 e 5.

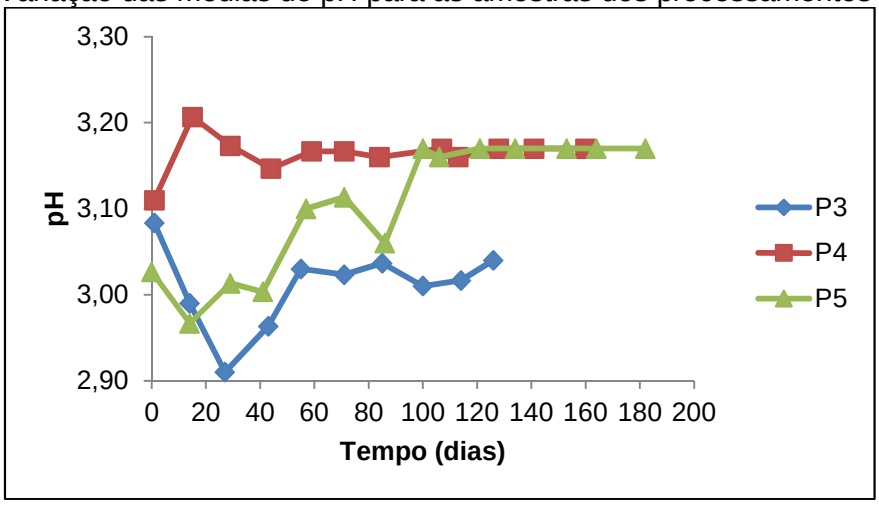


Figura 4.6: Variação das médias de acidez titulável para as amostras dos processamentos (P) 1, 2, 6 e 7.

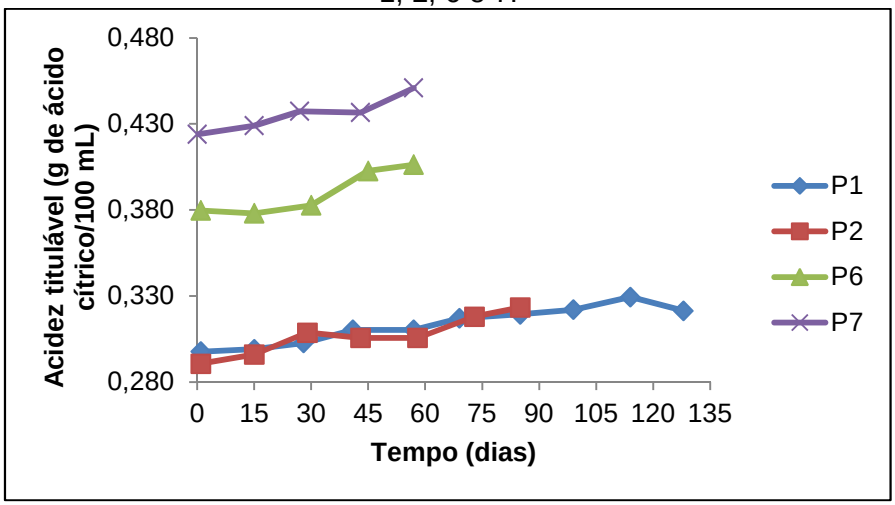
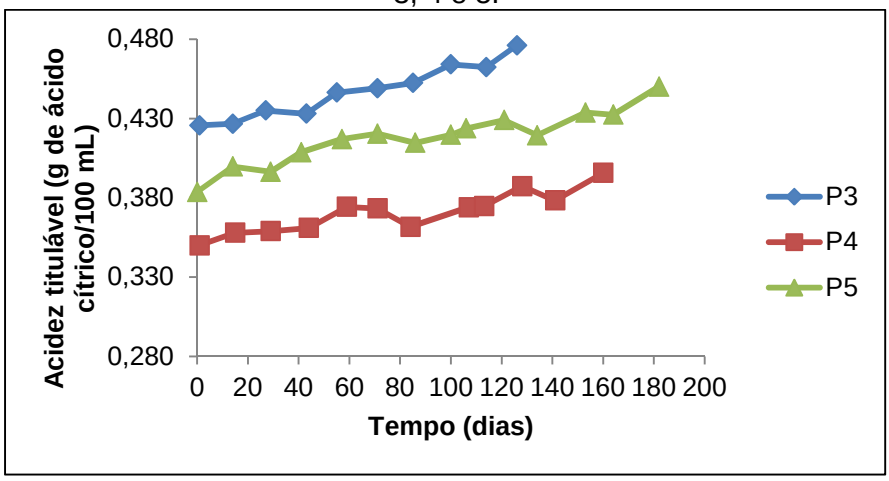


Figura 4.7: Variação das médias de acidez titulável para as amostras dos processamentos (P) 3, 4 e 5.



A Tabela 4.5 mostra que não houve diferença significativa entre os teores de sólidos solúveis dentro de cada lote processado. Tanto as amostras dos processamentos comercialmente esterilizados (P3, P4 e P5) quanto dos não comercialmente esterilizados (P1, P2, P6 e P7) tiveram o pH alterado ao longo do tempo de estocagem. Este fato deve-se provavelmente a compostos resultantes de reações químicas e bioquímicas. Todos os processamentos tiveram um aumento significativo da acidez titulável ao longo da vida útil. Para os processamentos que não atingiram a esterilidade comercial, este fato pode estar associado à produção de ácidos decorrente do desenvolvimento microbiano. Este significativo aumento não foi percebido pelos provadores na análise sensorial, que tiveram uma tendência de achar a bebida menos ácida com o passar do tempo (item 4.4.4.2).

De Marchi, Monteiro e Cardello (2003), Petrus e Faria (2005) e Santos, Alves e Lima (2013) desenvolveram bebidas isotônicas e Fontes et al. (2015) desenvolveram uma bebida eletrolítica e observaram alterações significativas de pH e acidez titulável ao longo do tempo de estocagem (30 dias para Santos, Alves e Lima (2013) e Fontes et al. (2015), 141 dias para De Marchi, Monteiro e Cardello (2003) e 182 dias para Petrus e Faria (2005)).

Tabela 4.6: Resultados das análises de cor (*L**, *a** e *b**) para a bebida isotônica processada (continua).

Tempo de estocagem (dias)	*L**		*a**		*b**	
	Amostra controle	Amostra codificada	Amostra controle	Amostra codificada	Amostra controle	Amostra codificada
Processamento 1 (90 °C/40 s)						
1	-	53,35 ab ± 0,64	-	18,15 a ± 0,12	-	50,76 a ± 0,65
15	52,99 A ± 0,06	52,72 Bb ± 0,03	18,24 A ± 0,09	18,39 Aa ± 0,03	50,54 B ± 0,75	52,20 Aa ± 0,02
28	-	52,72 b ± 0,01	-	18,38 a ± 0,02	-	52,14 a ± 0,10
41	52,77 A ± 0,04	52,77 Ab ± 0,09	18,33 A ± 0,06	18,31 Aa ± 0,02	51,41 A ± 0,04	51,71 Aa ± 0,53
57	-	53,45 ab ± 0,14	-	17,86 a ± 0,64	-	49,91 a ± 1,99
69	52,68 B ± 0,19	55,03 Aa ± 0,17	18,43 A ± 0,09	17,73 Ba ± 0,20	51,85 A ± 0,23	49,36 Ba ± 0,55
85	-	53,70 ab ± 0,93	-	18,37 a ± 0,15	-	50,80 a ± 0,96
99	52,74 A ± 0,08	54,26 Aab ± 2,10	18,63 A ± 0,01	18,26 Aa ± 0,45	52,24 A ± 0,01	50,04 Aa ± 1,40
114	-	53,79 ab ± 0,35	-	18,31 a ± 0,57	-	50,51 a ± 1,00
128	52,65 A ± 0,07	53,19 Aab ± 0,19	18,66 A ± 0,02	18,41 Aa ± 0,59	52,10 A ± 0,28	47,93 Aa ± 3,93
Processamento 2 (95 °C/30 s)						
1	-	51,30 a ± 0,10	-	18,51 d ± 0,07	-	47,50 a ± 0,33
15	49,94 A ± 0,38	49,70 Ac ± 0,52	19,39 A ± 0,44	19,24 Abc ± 0,17	48,92 A ± 0,16	47,28 Aab ± 0,78
29	-	49,74 c ± 0,10	-	19,47 b ± 0,05	-	47,40 ab ± 0,16
43	50,37 A ± 0,80	51,00 Aa ± 0,13	19,95 A ± 0,11	19,98 Aa ± 0,17	47,39 B ± 0,01	49,40 Aab ± 0,62
58	-	49,78 c ± 0,04	-	19,24 bc ± 0,01	-	46,15 b ± 0,06
73	50,03 A ± 0,08	50,05 Abc ± 0,29	19,61 A ± 0,58	19,38 Abc ± 0,21	47,91 A ± 0,03	47,48 Aab ± 0,41
85	-	50,68 ab ± 0,21	-	18,99 c ± 0,14	-	42,26 c ± 0,55

Os valores estão expressos em médias de três amostras juntamente com o desvio padrão
- indica que não houve análise (amostra controle analisada mensalmente).
Médias seguidas por uma mesma letra minúscula, na mesma coluna (comparação entre tempos de estocagem) e pela mesma letra maiúscula, na mesma linha (comparação entre amostras controle e codificada) não diferem entre si ($p > 0,05$).

Tabela 4.6: Resultados das análises de cor (*L*, a** e *b**) para a bebida isotônica processada (continuação).

Tempo de estocagem (dias)	*L**		*a**		*b**	
	Amostra controle	Amostra codificada	Amostra controle	Amostra codificada	Amostra controle	Amostra codificada
			Processamento 3 (95 °C/50 s)			
1	-	53,30 a ± 0,11	-	18,73 b ± 0,11	-	49,62 ab ± 0,13
14	53,50 A ± 0,02	51,74 Bc ± 0,06	19,75 A ± 0,04	19,40 Bab ± 0,03	45,93 B ± 0,04	49,95 Aab ± 0,06
27	-	52,58 ab ± 0,29	-	19,57 ab ± 0,06	-	49,72 ab ± 0,08
43	53,39 A ± 0,11	52,08 Babc ± 0,06	19,05 A ± 0,08	18,98 Ab ± 0,02	42,60 B ± 0,04	48,58 Ab ± 1,39
55	-	53,24 ab ± 0,06	-	20,09 a ± 0,04	-	51,19 a ± 0,08
71	51,92 A ± 0,19	52,62 Aab ± 0,74	19,47 A ± 0,18	19,55 Aab ± 0,11	49,26 A ± 0,42	49,13 Ab ± 0,07
85	-	51,76 bc ± 0,12	-	19,56 ab ± 0,02	-	49,00 b ± 0,01
100	52,59 A ± 0,06	52,27 Aabc ± 0,74	19,04 A ± 0,02	19,43 Aab ± 0,47	44,72 A ± 0,23	48,81 Ab ± 0,22
114	-	51,98 abc ± 0,71	-	19,52 ab ± 0,44	-	48,79 b ± 0,20
126	51,92 A ± 0,57	50,91 Ac ± 1,00	18,98 A ± 0,69	19,99 Aa ± 0,87	47,76 A ± 1,81	49,30 Ab ± 1,10
			Processamento 4 (90 °C/40 s)			
1	-	48,21 b ± 0,27	-	19,81 bcd ± 0,12	-	46,83 bcd ± 0,43
15	50,00 A ± 0,04	48,38 Bb ± 0,29	19,06 B ± 0,21	20,01 Abc ± 0,06	41,00 B ± 0,19	47,33 Aabc ± 0,02
29	-	49,62 a ± 0,10	-	20,39 a ± 0,06	-	48,57 a ± 0,66
44	48,40 A ± 0,21	48,60 Ab ± 0,02	19,14 A ± 0,38	19,48 Ae ± 0,02	44,57 A ± 0,06	44,74 Aef ± 0,07
59	-	48,70 b ± 0,12	-	20,08 ab ± 0,02	-	47,66 ab ± 1,25
71	49,30 A ± 0,22	49,46 Aa ± 0,10	19,64 A ± 0,14	19,71 Acde ± 0,04	42,74 A ± 0,70	42,45 Ag ± 0,32
84	-	49,94 a ± 0,54	-	18,74 f ± 0,18	-	43,76 fg ± 0,67
107	49,36 A ± 0,17	49,64 Aa ± 0,29	19,74 A ± 0,04	19,74 Acde ± 0,14	43,23 A ± 0,08	42,57 Ag ± 0,44
113	-	49,71 a ± 0,31	-	19,69 de ± 0,19	-	42,68 g ± 0,30
128	47,29 B ± 0,43	48,14 Ab ± 0,03	19,74 B ± 0,24	20,09 Aab ± 0,07	43,23 A ± 0,47	46,91 Aabcd ± 0,70
141	-	48,39 b ± 0,29	-	19,66 de ± 0,07	-	45,77 cde ± 0,21
160	48,30 A ± 0,37	48,42 Ab ± 0,07	19,74 A ± 0,13	19,91 Abcd ± 0,12	43,23 A ± 1,16	45,58 Ade ± 0,59

Os valores estão expressos em médias de três amostras juntamente com o desvio padrão
- indica que não houve análise (amostra controle analisada mensalmente).
Médias seguidas por uma mesma letra minúscula, na mesma coluna (comparação entre tempos de estocagem) e pela mesma letra maiúscula, na mesma linha (comparação entre amostras controle e codificada) não diferem entre si ($p > 0,05$).

Tabela 4.6: Resultados das análises de cor (*L*, a** e *b**) para a bebida isotônica processada (continuação).

Tempo de estocagem (dias)	*L**		*a**		*b**	
	Amostra controle	Amostra codificada	Amostra controle	Amostra codificada	Amostra controle	Amostra codificada
Processamento 5 (85 °C/30 s)						
0	-	47,57 d ± 0,51	-	19,59 a ± 0,32	-	45,34 bcd ± 1,88
14	47,48 A ± 0,18	47,61 Ad ± 0,41	19,72 A ± 0,11	19,78 Aa ± 0,04	46,57 A ± 0,21	46,38 Aab ± 0,29
29	-	47,77 cd ± 0,20	-	17,91 a ± 3,36	-	45,98 abcd ± 0,61
41	47,59 B ± 0,12	49,30 Aabc ± 0,37	19,73 B ± 0,11	20,46 Aa ± 0,01	46,61 B ± 0,23	48,23 Aa ± 0,09
57	-	47,83 cd ± 0,14	-	19,81 a ± 0,08	-	46,00 abcd ± 0,32
71	47,66 A ± 0,04	47,91 Acd ± 0,16	20,05 A ± 0,10	19,87 Aa ± 0,23	46,61 A ± 0,18	46,14 Aabcd ± 0,36
86	-	49,33 abc ± 0,04	-	19,26 a ± 0,57	-	46,17 abcd ± 0,20
100	47,85 B ± 0,16	49,87 Aab ± 0,39	19,11 B ± 0,48	19,74 Aa ± 0,14	45,14 A ± 0,33	42,57 Be ± 0,44
106	-	48,56 bcd ± 0,58	-	19,25 a ± 0,51	-	43,85 cde ± 0,25
121	48,75 A ± 1,18	47,83 Acd ± 0,03	19,74 A ± 1,34	19,91 Aa ± 0,07	43,23 B ± 0,34	46,03 Aabcd ± 0,16
134	-	50,27 a ± 1,31	-	18,58 a ± 1,32	-	42,70 e ± 1,35
153	48,14 A ± 0,16	48,26 Abcd ± 0,45	19,74 A ± 0,10	19,69 Aa ± 0,06	43,23 A ± 0,58	43,83 Ade ± 1,65
164	-	48,10 cd ± 1,02	-	19,46 a ± 0,23	-	46,09 abcd ± 0,65
182	48,04 A ± 0,09	47,94 Acd ± 0,17	19,74 A ± 0,12	19,53 Aa ± 0,22	43,21 B ± 0,60	46,33 Aabc ± 0,42
Processamento 6 (85 °C/50 s)						
1	-	48,01 b ± 0,27	-	20,01 b ± 0,09	-	47,40 a ± 0,28
15	49,12 A ± 0,16	49,36 Aa ± 0,06	20,62 A ± 0,08	20,56 Aa ± 0,01	48,56 A ± 0,64	48,50 Aa ± 0,04
30	-	48,52 b ± 0,03	-	19,48 c ± 0,01	-	44,78 b ± 0,07
45	48,96 A ± 0,12	48,31 Bb ± 0,06	20,35 A ± 0,06	20,18 Bb ± 0,03	48,04 A ± 0,08	43,41 Bbc ± 0,13
57	-	49,29 a ± 0,40	-	19,48 c ± 0,27	-	41,84 c ± 1,36

Os valores estão expressos em médias de três amostras juntamente com o desvio padrão
- indica que não houve análise (amostra controle analisada mensalmente).
Médias seguidas por uma mesma letra minúscula, na mesma coluna (comparação entre tempos de estocagem) e pela mesma letra maiúscula, na mesma linha (comparação entre amostras controle e codificada) não diferem entre si ($p > 0,05$).

Tabela 4.6: Resultados das análises de cor (*L*, a** e *b**) para a bebida isotônica processada (conclusão).

Tempo de estocagem (dias)	*L**		*a**		*b**	
	Amostra controle	Amostra codificada	Amostra controle	Amostra codificada	Amostra controle	Amostra codificada
			Processamento 7 (90 °C/40 s)			
0	-	46,07 b ± 0,04	-	19,94 ab ± 0,04	-	43,91 b ± 0,09
15	47,43 A ± 0,11	45,36 Bc ± 0,23	17,97 B ± 0,05	19,28 Acd ± 0,22	34,54 B ± 0,11	42,00 Ac ± 0,19
27	-	46,59 a ± 0,12	-	20,10 a ± 0,13	-	44,55 a ± 0,35
43	45,08 A ± 0,06	45,30 Ac ± 0,20	19,38 A ± 0,03	19,36 Abc ± 0,39	42,06 A ± 0,06	41,52 Bc ± 0,12
57	-	46,36 ab ± 0,08	-	18,74 d ± 0,13	-	41,71 c ± 0,19

Os valores estão expressos em médias de três amostras juntamente com o desvio padrão
- indica que não houve análise (amostra controle analisada mensalmente).
Médias seguidas por uma mesma letra minúscula, na mesma coluna (comparação entre tempos de estocagem) e pela mesma letra maiúscula, na mesma linha (comparação entre amostras controle e codificada) não diferem entre si ($p > 0,05$).

As Figuras 4.8 a 4.14 complementam os resultados mostrados na Tabela 4.6, ilustrando as variações dos parâmetros de cor *L**, *a** e *b** ao longo do tempo para os sete processamentos durante o período de estocagem.

Figura 4.8: Variação das médias dos parâmetros de cor (*L* a* b**) da bebida isotônica do processamento 1.

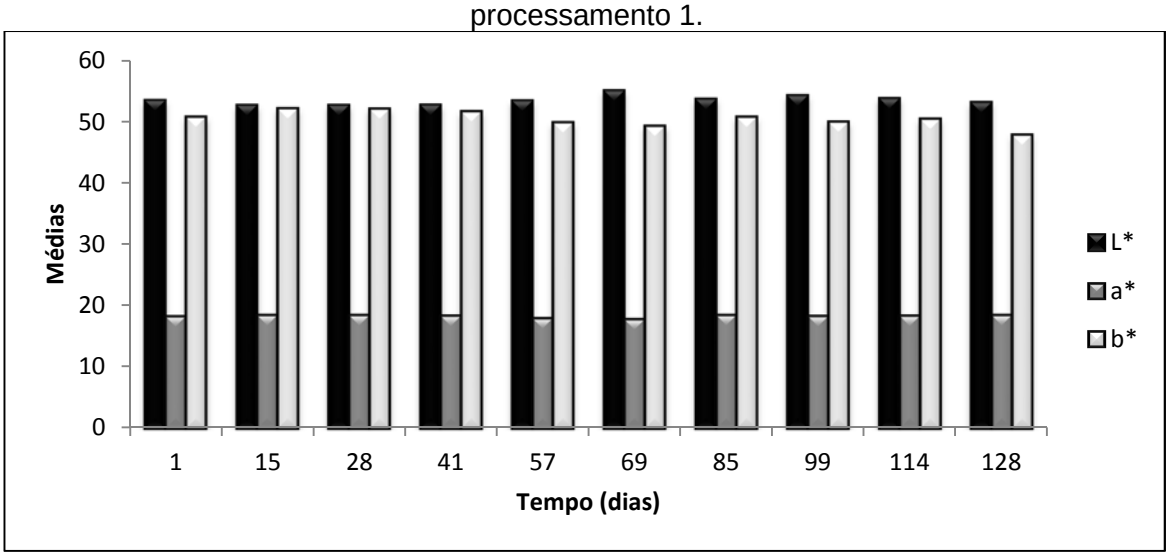


Figura 4.9: Variação das médias dos parâmetros de cor (*L* a* b**) da bebida isotônica do processamento 2.

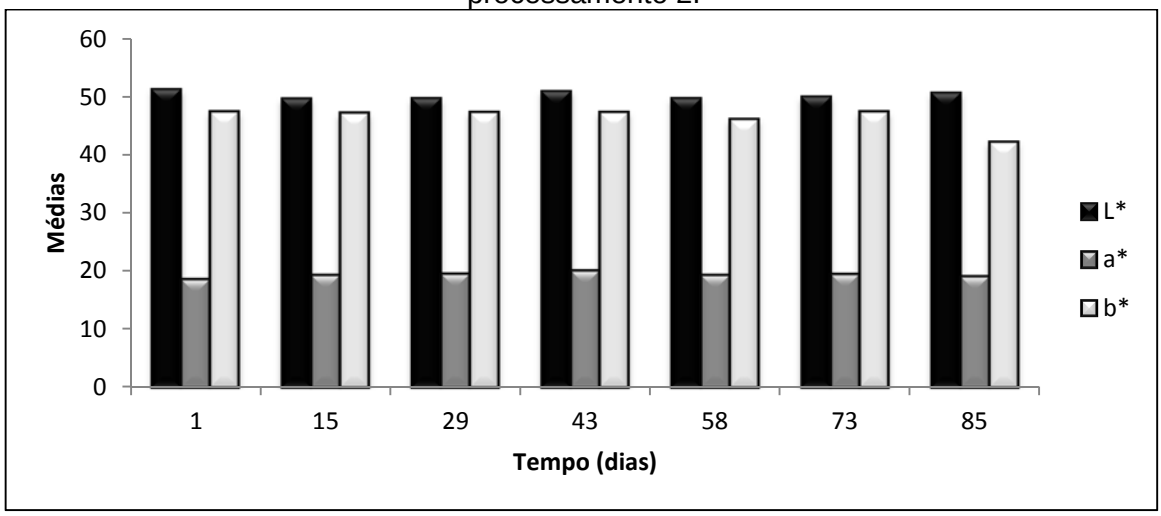


Figura 4.10: Variação das médias dos parâmetros de cor (*L* a* b**) da bebida isotônica do processamento 3.

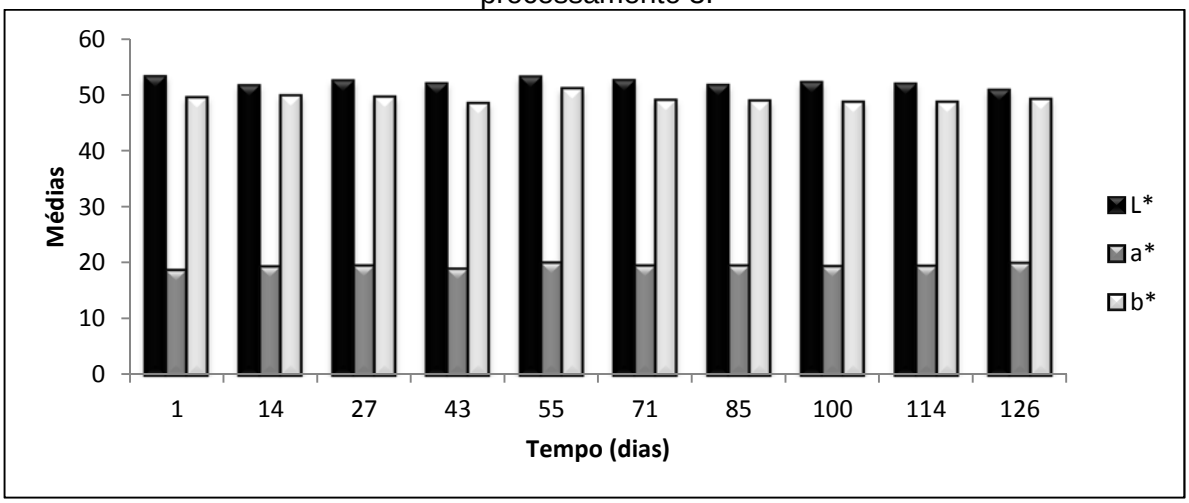


Figura 4.11: Variação das médias dos parâmetros de cor (*L* a* b**) da bebida isotônica do processamento 4.

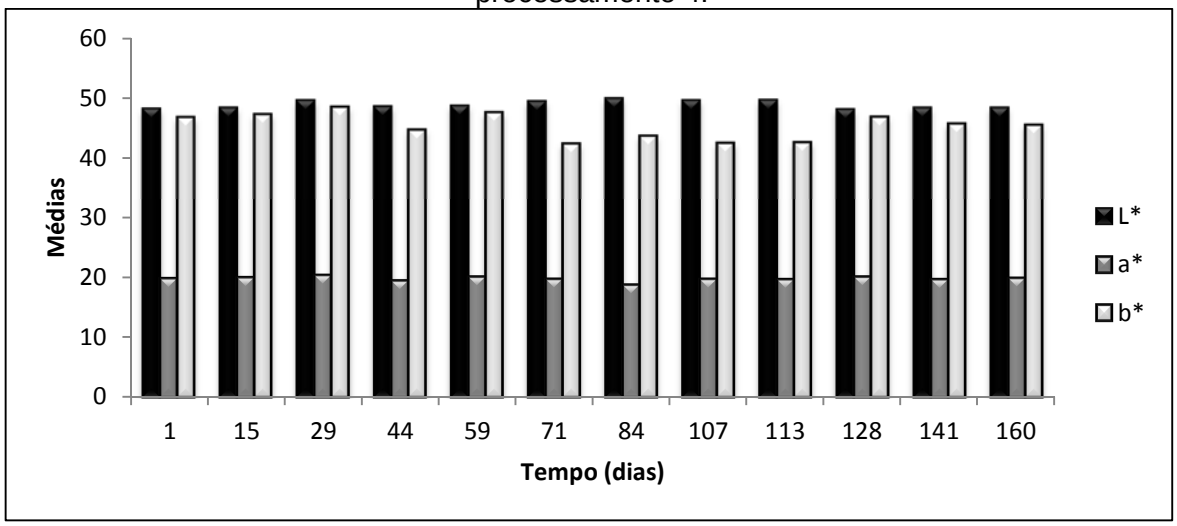


Figura 4.12: Variação das médias dos parâmetros de cor (*L* a* b**) da bebida isotônica do processamento 5.

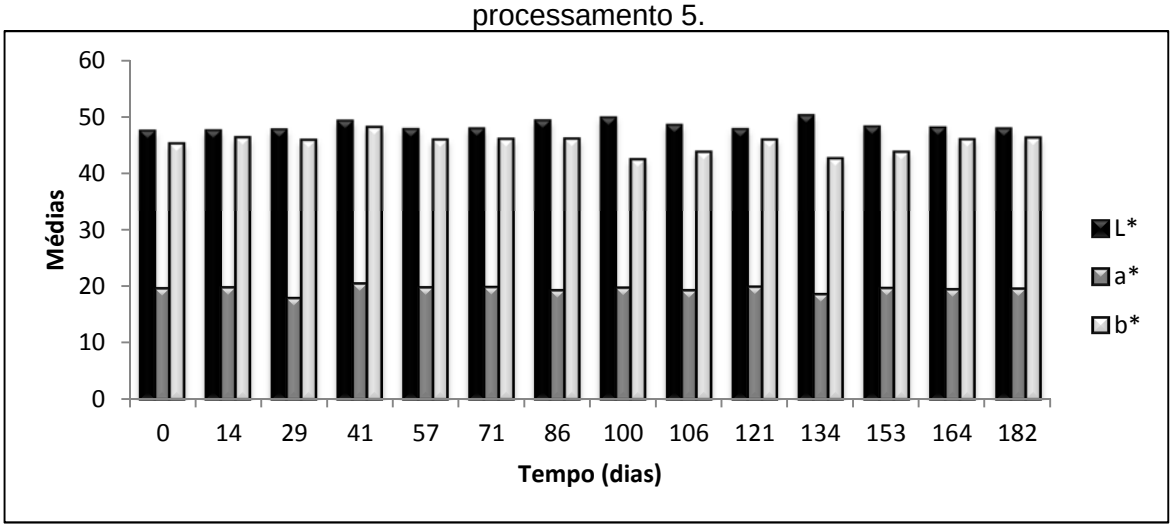


Figura 4.13: Variação das médias dos parâmetros de cor (*L* a* b**) da bebida isotônica do processamento 6.

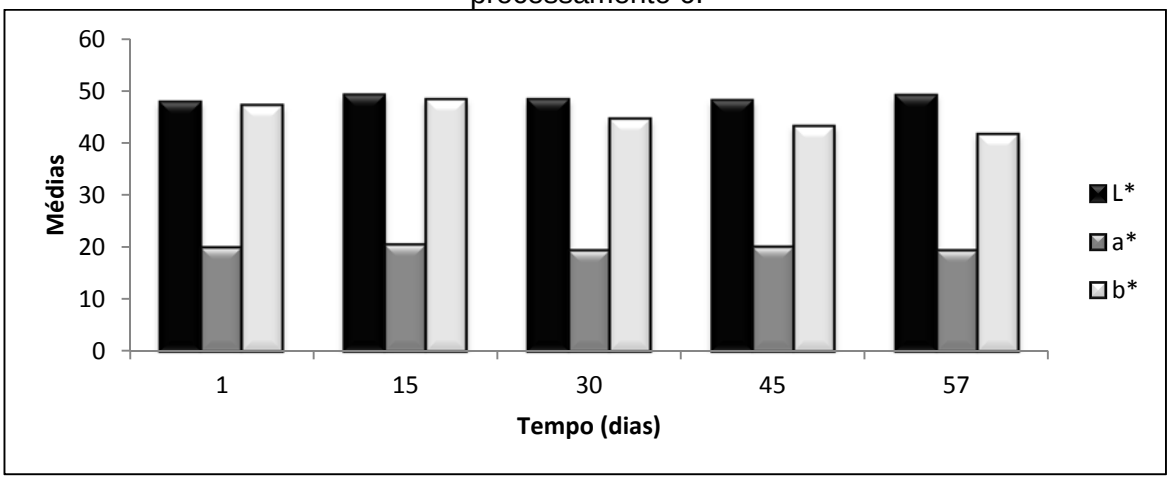
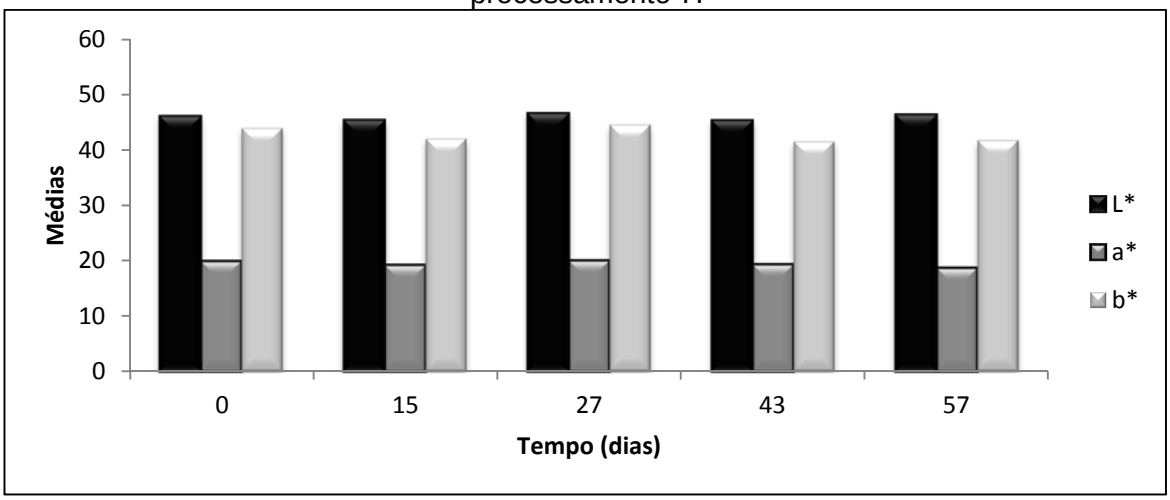


Figura 4.14: Variação das médias dos parâmetros de cor (*L* a* b**) da bebida isotônica do processamento 7.



O corante amarelo crepúsculo possui boa estabilidade na presença de luz, calor e ácido, apresentando descoloração na presença de ácido ascórbico e SO_2 (FOOD INGREDIENTES BRASIL, 2009). Ostroski, Bariccatti e Lindino (2005) afirmam que a velocidade de degradação do corante amarelo crepúsculo aumenta quanto menor for o pH do meio utilizado e que a utilização de embalagem de PET, por atuar como filtro à radiação ultravioleta, diminui a velocidade de degradação do corante frente às embalagens de vidro.

A bebida isotônica com soro de ricota foi acondicionada em garrafa de PET pigmentada com TiO_2 (coloração branca) e estocada ao abrigo de luz, podendo-se afirmar que os raios ultravioletas não influenciaram na degradação da cor da bebida.

A Tabela 4.7 apresenta os valores médios de *L**, *a** e *b** para os sete processamentos.

Tabela 4.7: Valores médios para os parâmetros de cor *L* a* b*.*

Processamento	Parâmetros de cor		
	*L**	*a**	*b**
P1 (90 °C/40 s)	53,61[a]	17,95[c]	49,61[a]
P2 (95 °C/30 s)	50,32[c]	19,26[b]	46,92[bc]
P3 (95 °C/50 s)	52,38[b]	19,48[ab]	48,01[ab]
P4 (90 °C/40 s)	48,93[d]	19,78[ab]	45,40[c]
P5 (85 °C/30 s)	48,44[d]	19,49[ab]	45,40[c]
P6 (85 °C/50 s)	48,70[d]	19,94[a]	45,19[c]
P7 (90 °C/40 s)	45,94[e]	19,49[ab]	42,74[c]

Médias seguidas por uma mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ($p > 0,05$.)

O lote 1 apresentou a maior média de luminosidade (*L**) e o lote 7 a menor. Os lotes 3, 4, 5, 6 e 7 apresentaram valores médios semelhantes para *a** (relacionado à tonalidade vermelha). Os lotes 4, 5, 6 e 7 apresentaram os menores valores médios de b* (relacionado à tonalidade amarela), os lotes 1 e 3 os maiores. Pode-se afirmar que não ocorreu reação de Maillard na bebida, reação esta entre açúcares redutores (glicose, galactose e lactose) e peptídeos e aminoácidos remanescentes na bebida (BOBBIO; BOBBIO, 2001), já que, de acordo com Sansonetti et al. (2009), o soro de ricota pode ter até 0,22% de proteínas em sua composição. Um indicativo de reação de Maillard seria uma luminosidade menor e uma tonalidade amarela mais intensa em P3, tratamento mais intenso entre todos os realizados (95 °C/50 s), porém este fato não foi observado.

A diferença entre a coloração das bebidas pode também ser causada pela cor amarelo esverdeada que o soro de ricota apresenta e que varia de acordo com a matéria-prima utilizada.

É importante mencionar que as variações apontadas pelas Figuras 4.8 a 4.14, ao longo do tempo, não exerceram influência apreciável do ponto de vista dos testes sensoriais, a serem discutidos no item 4.4.4.2, para os processamentos 2, 3, 5, 6 e 7.

4.4.4 Avaliação da estabilidade sensorial

Os testes sensoriais são fatores decisivos para a determinação da vida útil de isotônicos. Para avaliar a estabilidade sensorial do produto estocado a 25 °C, foram realizados testes de Escala Hedônica de nove pontos. Adicionalmente, comparou-se a amostra controle (estocada a -18 °C) com a amostra codificada (estocada a 25 °C).

4.4.4.1 Teste de Escala Hedônica

Como mencionado no item 4.3.2.2, a estabilidade sensorial do produto de todos os processamentos foi definida adotando-se o valor 5 (nem gostei/nem desgostei) na Escala Hedônica Estruturada de nove pontos como nota de corte. Como critério adicional,

estabeleceu-se uma porcentagem de aceitação igual ou superior a 60%, para definir o tempo de vida útil da bebida.

A Tabela 4.8 apresenta os resultados obtidos na avaliação sensorial. Os valores em negrito indicam as médias das notas e as porcentagens de aceitação que não alcançaram os critérios mínimos estabelecidos.

Tabela 4.8: Resultados dos testes de Escala Hedônica da bebida isotônica.

Processamento	Tempo de estocagem (dias)	Impressão global (média[1] ± desvio-padrão de notas/% de aceitação[2])	
		Controle	Amostra
1 (40 s/90 °C)	15	6,60 Aa ± 1,68 / 86,7	6,33 Aa ± 1,82 / 80,0
	43	6,43 Aa ± 1,66 / 85,0	6,58 Aa ± 1,46 / 91,7
	70	6,38 Aa ± 1,74 / 85,0	5,72 Ba ± 1,98 / 71,7
	99	6,85 Aa ± 1,76 / 86,7	6,22 Ba ± 1,70 / 83,3
	128	6,82 Aa ± 1,43 / 86,7	5,73 Ba ± 1,96 / 71,7
2 (30 s/95 °C)	16	6,48 Aa ± 1,76 / 81,7	6,65 Aa ± 1,53 / 90,0
	43	6,67 Aa ± 1,46 / 90,0	6,03 Ba ± 1,82 / 76,7
	70	6,75 Aa ± 1,50 / 88,3	6,37 Ba ± 1,77 / 85,0
3 (50 s/95 °C)	15	6,37 Ba ± 1,62 / 85,0	6,92 Aa ± 1,23 / 91,7
	44	5,93 Aa ± 1,90 / 71,7	6,08 Aab ± 1,99 / 76,7
	70	6,25 Aa ± 1,61 / 83,3	6,35 Aab ± 1,82 / 81,7
	100	6,48 Aa ± 1,69 / 83,3	5,80 Ab ± 1,94 / 76,7
	126	6,58 Aa ± 1,33 / 90,0	**4,12** Bc ± 2,37 / **36,7**
4 (40 s/90 °C)	15	6,47 Aa ± 1,89 / 85,0	6,38 Aab ± 2,06 / 78,3
	44	6,45 Aa ± 1,59 / 86,7	6,58 Aab ± 1,50 / 93,3
	71	6,68 Aa ± 1,64 / 85,0	6,97 Aa ± 1,26 / 95,0
	99	6,32 Aa ± 1,63 / 81,7	6,13 Aabc ± 1,85 / 81,7
	128	6,45 Aa ± 1,29 / 90,0	6,05 Abc ± 1,69 / 81,7
	160	6,52 Aa ± 1,51 / 88,3	5,50 Bc ± 1,80 / **58,3**
5 (30 s/85 °C)	15	6,28 Ba ± 1,65 / 81,7	6,67 Aa ± 1,46 / 90,0
	42	6,20 Aa ± 1,74 / 83,3	6,08 Aab ± 1,95 / 80,0
	71	6,23 Aa ± 1,78 / 81,7	5,68 Bbc ± 1,94 / 70,0
	100	6,57 Aa ± 1,70 / 88,3	5,78 Babc ± 2,00 / 71,7
	121	6,23 Aa ± 1,58 / 88,3	5,52 Bbc ± 1,95 / 70,0
	153	6,52 Aa ± 1,32 / 88,3	5,70 Babc ± 1,69 / 73,3
	182	6,40 Aa ± 1,40 / 86,7	**4,83** Bc ± 2,32 / **55,0**
6 (50 s/85 °C)	15	6,05 Aa ± 1,88 / 76,7	6,03 Aa ± 1,93 / 76,7
	42	6,37 Aa ± 1,83 / 83,3	6,38 Aa ± 1,61 / 86,7
7 (40 s/90 °C)	16	5,95 Aa ± 1,70 / 78,3	6,08 Aa ± 1,69 / 76,7
	42	5,92 Ba ± 1,57 / 80,0	6,38 Aa ± 1,66 / 83,3

[1] Médias seguidas por uma mesma letra minúscula na mesma coluna (comparação entre tempos de estocagem) e pela mesma letra maiúscula na mesma linha (comparação entre controle e amostra) não diferem entre si ($p > 0,05$).
[2] Porcentagem de provadores que atribuiu nota igual ou superior a 5 na Escala Hedônica de nove pontos (1 = desgostei muitíssimo; 5 = nem gostei/nem desgostei; 9 = gostei muitíssimo).
Controle: estocado a -18 °C. Amostra: estocada a 25 °C. Número de provadores: 60. Temperatura de degustação: 4 °C.

As amostras controle (mantidas a -18 °C) não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) para impressão global durante o período de estocagem, uma vez que o congelamento diminui consideravelmente a taxa de deterioração da bebida, preservando suas características iniciais.

Os processamentos 1, 2, 6 e 7 não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) com relação à impressão global durante o período de armazenamento (128, 70, 42 e 42 dias, respectivamente) diferentemente dos processamentos 3, 4 e 5, que tiveram uma diminuição significativa da nota ($p < 0,05$).

Somente para o processamento 6 não houve diferença estatística entre o controle e a amostra. Para os demais processamentos esta diferença foi significativa ($p < 0,05$).

As amostras dos processamentos 3 e 4 atingiram níveis de aceitação semelhantes, até a penúltima sessão realizada. Na última sessão, em que as amostras foram eliminadas pelos critérios de corte, verificou-se diferença significativa entre elas.

As amostras do P1, P2 e P5 tiveram uma nota significativamente menor que o controle a partir de 70, 43 e 71 dias de estocagem, respectivamente.

No processamento 4, o critério complementar para nota de corte (mínimo de 60% de aceitação) não foi atendido depois de 160 dias (58,3% de aceitação), considerando-se assim uma estabilidade equivalente de 128 dias para este lote.

Os processamentos 3 e 5 não atenderam a ambos os requisitos impostos, com 126 e 182 dias, respectivamente, atingindo médias e porcentagens de aceitação inferiores a 5 e a 60% aceitação (4,1 e 36,7% para P3 e 4,8 e 55,0% para P5).

Os lotes 2, 6 e 7, apesar de se apresentarem microbiologicamente estáveis (item 4.4.2), foram eliminados devido à detecção de algumas embalagens com formação de gás e/ou presença de grumos, fazendo com que as análises fossem interrompidas. Os lotes 3, 4 e 5, comercialmente esterilizados e eliminados pelos requisitos de corte, sofreram eventuais transformações químicas e bioquímicas que tenham resultado em um sabor menos atrativo aos provadores.

As Figuras 4.15 a 4.21 suplementam as resultados mostrados na Tabela 4.8, ilustrando a evolução das médias das notas para as amostras estocadas a -18 °C e a 25 °C. Observa-se que a maioria das médias das notas das amostras apresentou-se próxima a 6 (gostei ligeiramente) e 7 (gostei moderadamente) para os sete lotes. A linha reta pontilhada representa a nota de corte (5).

Figura 4.15: Evolução das médias das notas para sabor da bebida isotônica estocada a 25 °C (codificada) e a -18 °C (controle) do processamento (P) 1.

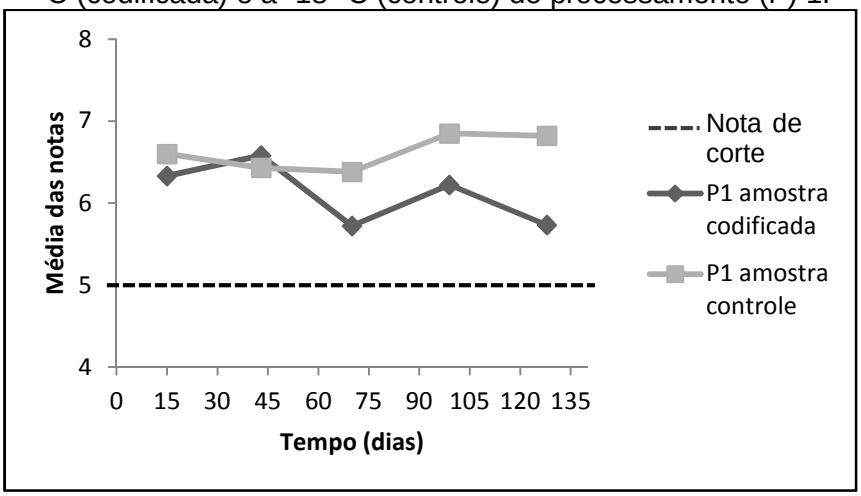


Figura 4.16: Evolução das médias das notas para sabor da bebida isotônica estocada a 25 °C (codificada) e a -18 °C (controle) do processamento (P) 2.

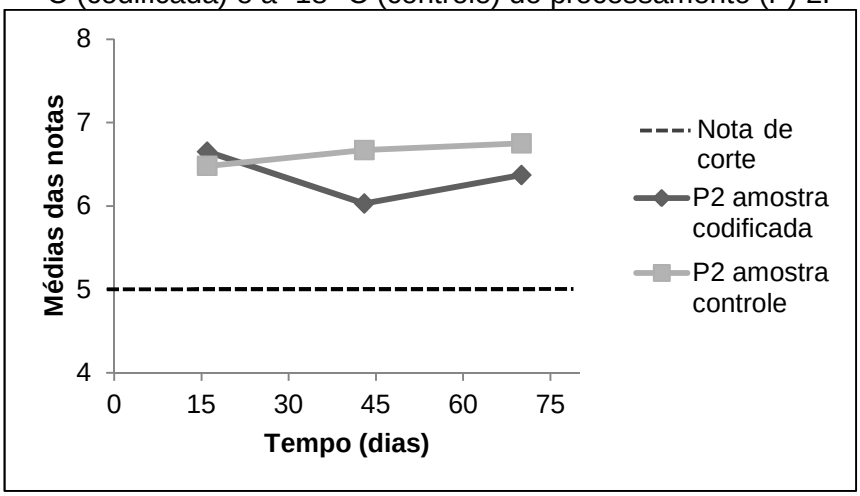


Figura 4.17: Evolução das médias das notas para sabor da bebida isotônica estocada a 25 °C (codificada) e a -18 °C (controle) do processamento (P) 3.

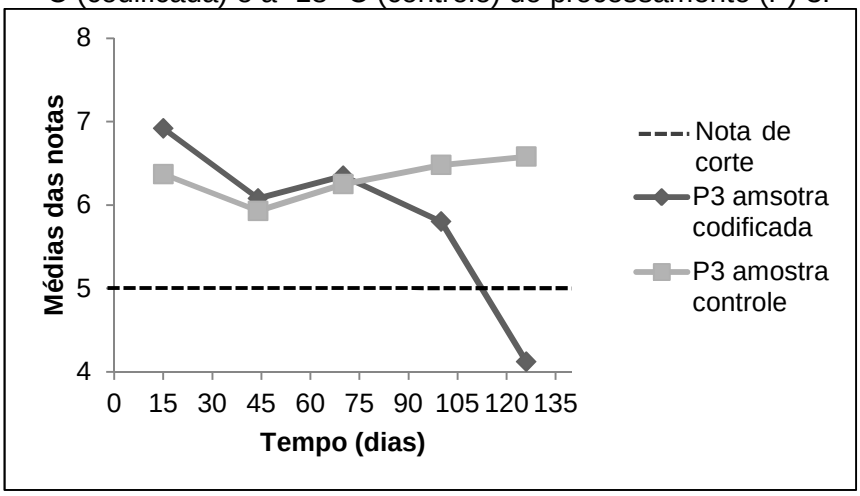


Figura 4.18: Evolução das médias das notas para sabor da bebida isotônica estocada a 25 °C (codificada) e a -18 °C (controle) do processamento (P) 4.

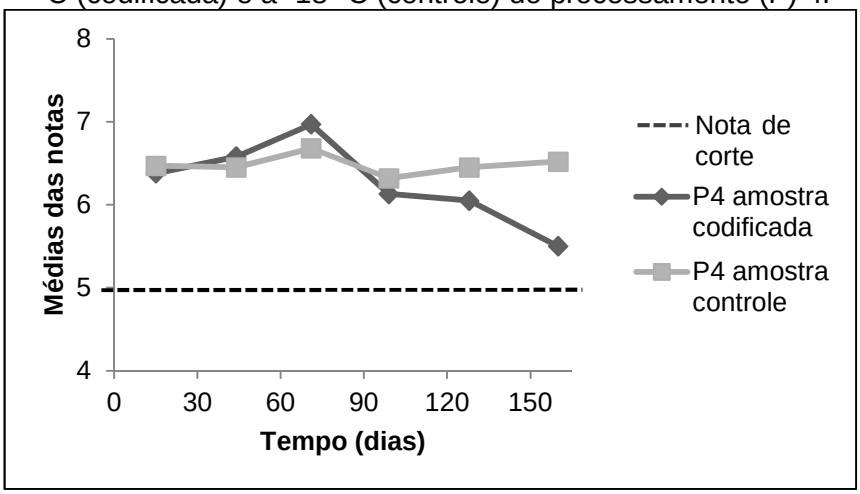


Figura 4.19: Evolução das médias das notas para sabor da bebida isotônica estocada a 25 °C (codificada) e a -18 °C (controle) do processamento (P) 5.

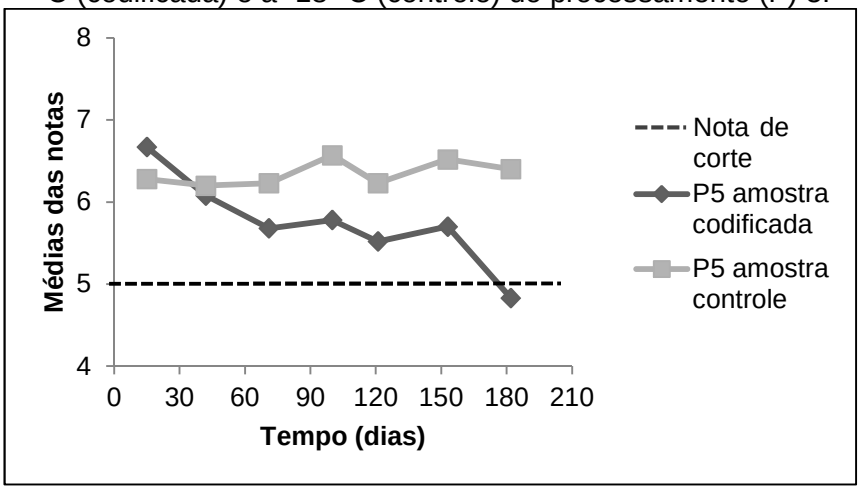


Figura 4.20: Evolução das médias das notas para sabor da bebida isotônica estocada a 25 °C (codificada) e a -18 °C (controle) do processamento (P) 6.

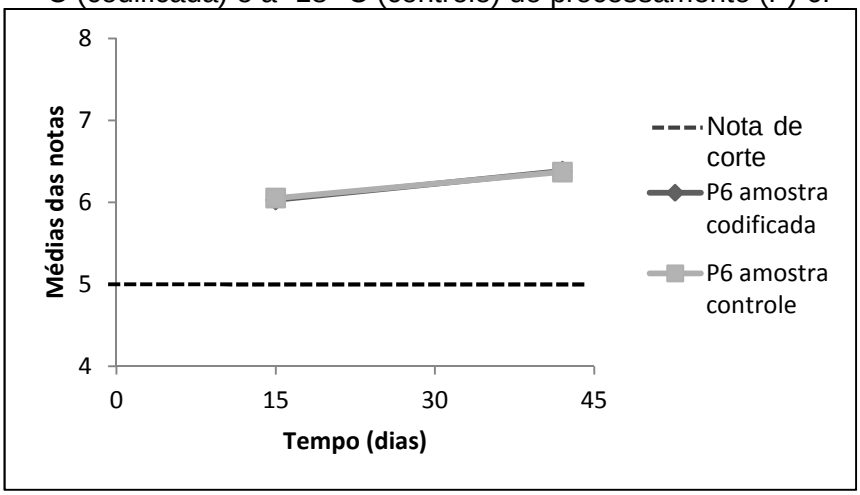
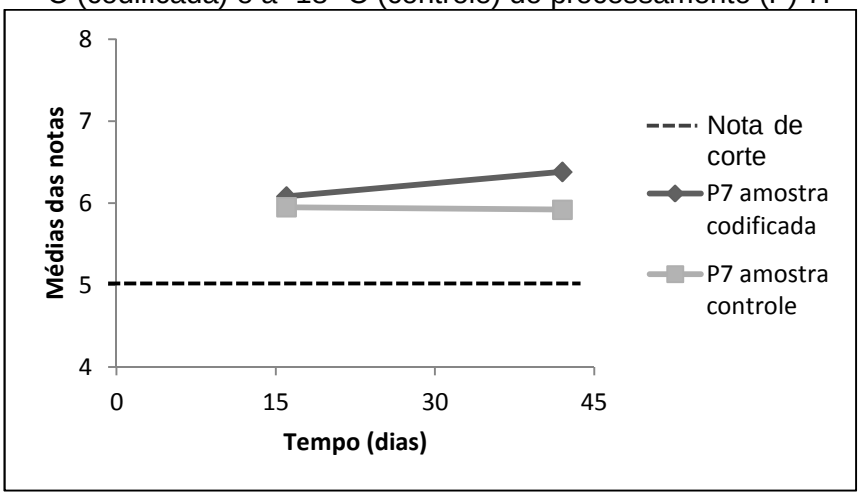


Figura 4.21: Evolução das médias das notas para sabor da bebida isotônica estocada a 25 °C (codificada) e a -18 °C (controle) do processamento (P) 7.



4.4.4.2 Comparação entre controle e amostra

Complementarmente ao teste de Escala Hedônica, foi realizada uma comparação entre o controle e a amostra de cada processamento para os atributos sabor, cor e acidez, onde foi pedido para o provador experimentar a amostra controle e em seguida a amostra codificada e então avaliar o quão diferente a amostra codificada estava da amostra controle, como pode ser observado na ficha apresentada aos julgadores no Apêndice D. As Figuras 4.22 a 4.42 apresentam as porcentagens de diferença sensorial observada pelos provadores para os atributos sabor, cor e acidez dos sete processamentos. O atributo de comparação “acidez” passou a ser avaliado somente a partir da terceira análise sensorial para os processamentos 1, 2, 3 e 4, e a partir da segunda análise para os processamentos 5, 6 e 7.

Figura 4.22: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “sabor” da bebida isotônica do processamento 1.

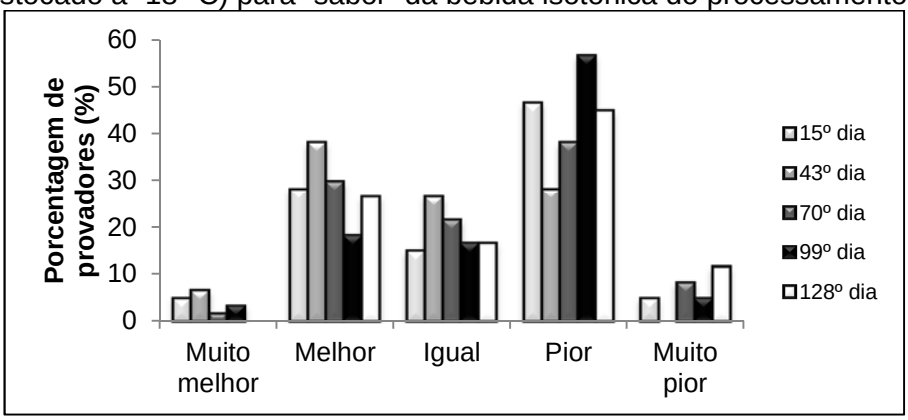


Figura 4.23: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “cor” da bebida isotônica do processamento 1.

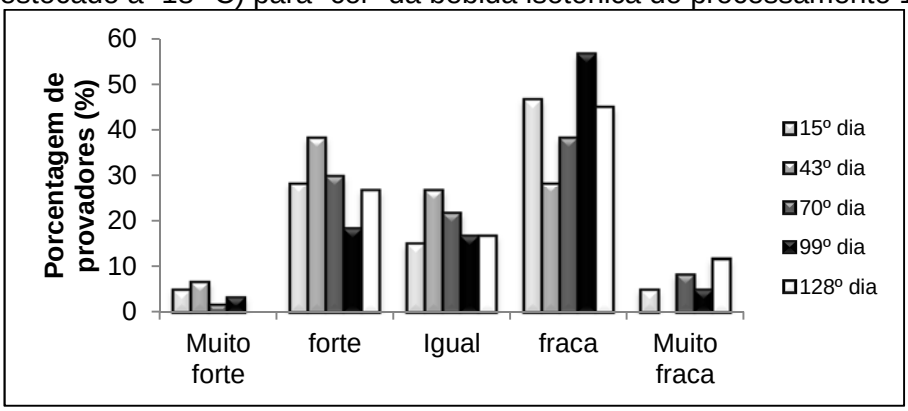


Figura 4.24: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “acidez” da bebida isotônica do processamento 1.

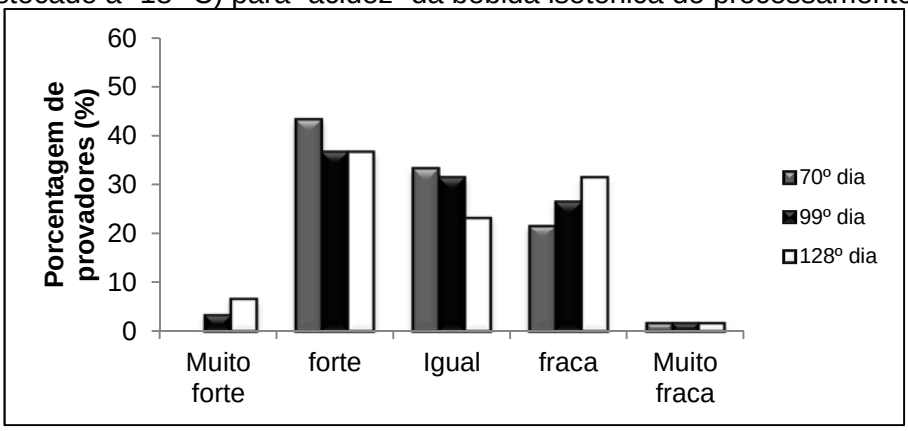


Figura 4.25: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “sabor” da bebida isotônica do processamento 2.

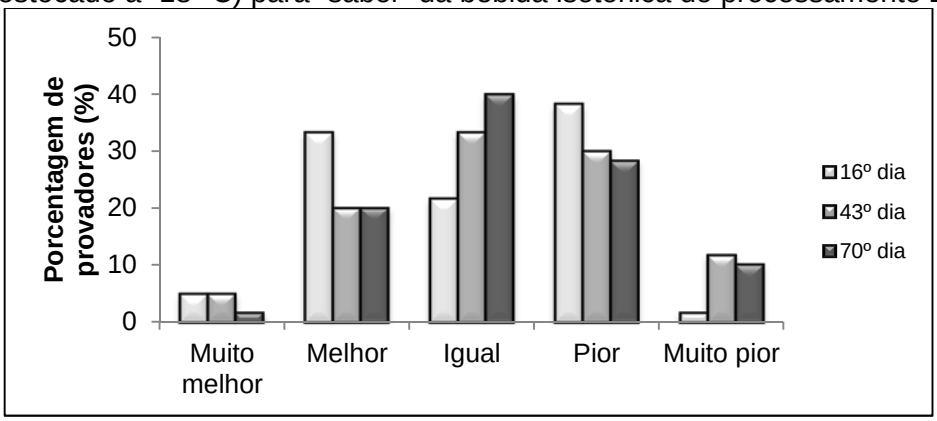


Figura 4.26: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “cor” da bebida isotônica do processamento 2.

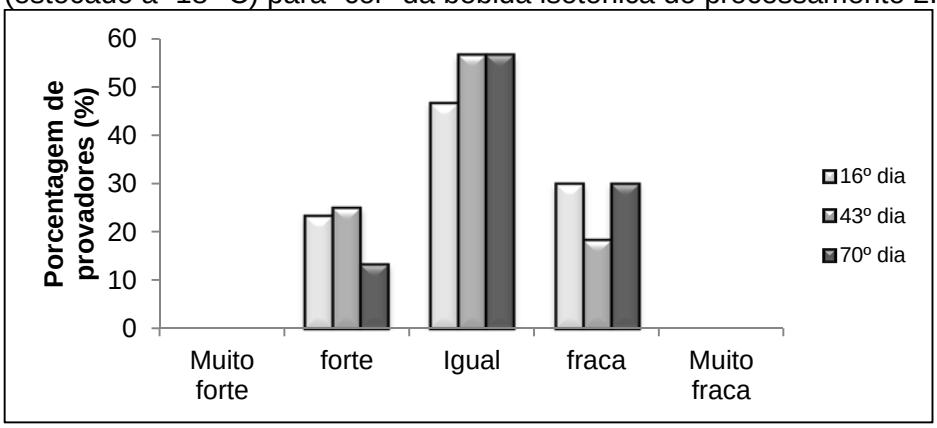


Figura 4.27: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “acidez” da bebida isotônica do processamento 2.

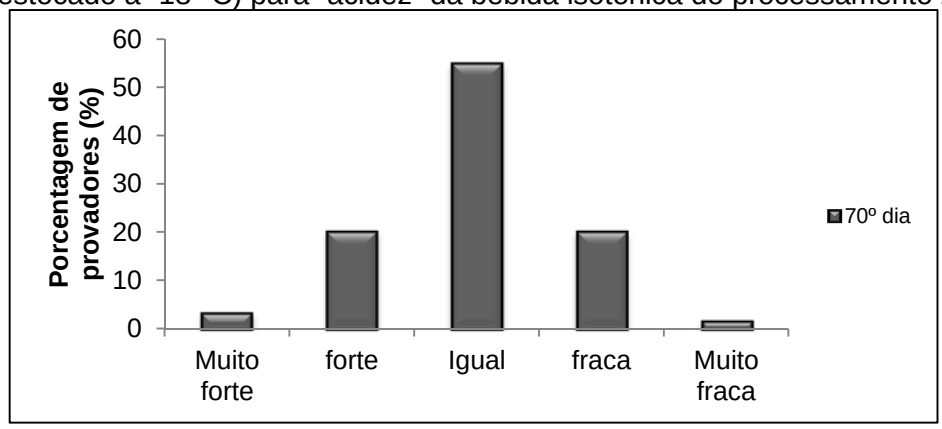


Figura 4.28: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “sabor” da bebida isotônica do processamento 3.

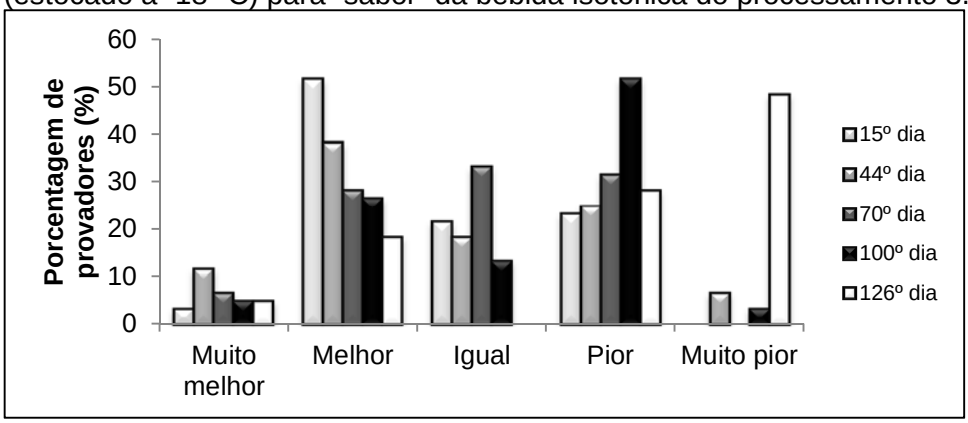


Figura 4.29: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “cor” da bebida isotônica do processamento 3.

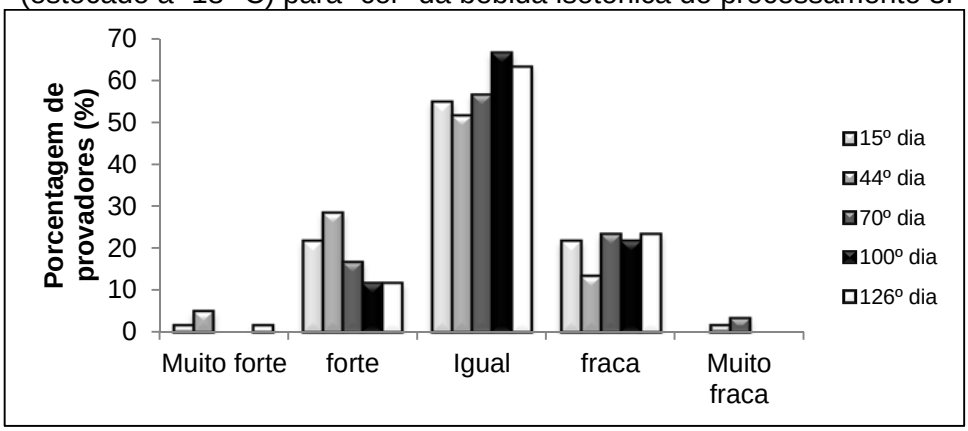


Figura 4.30: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “acidez” da bebida isotônica do processamento 3.

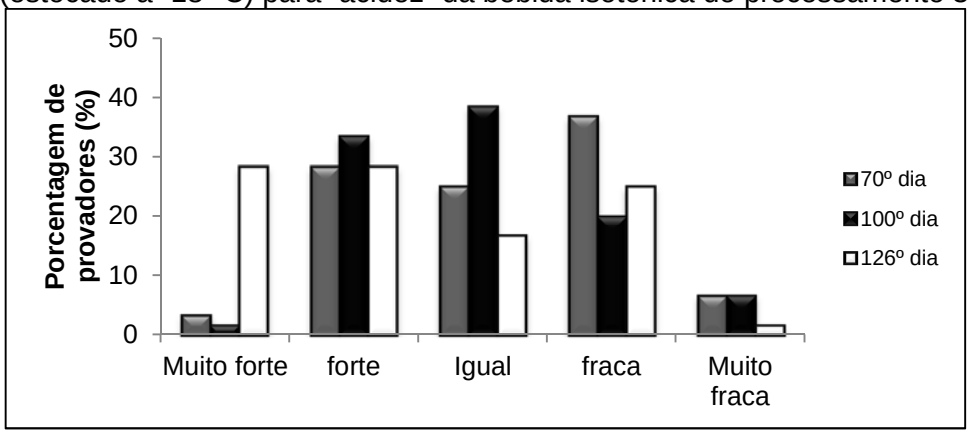


Figura 4.31: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “sabor” da bebida isotônica do processamento 4.

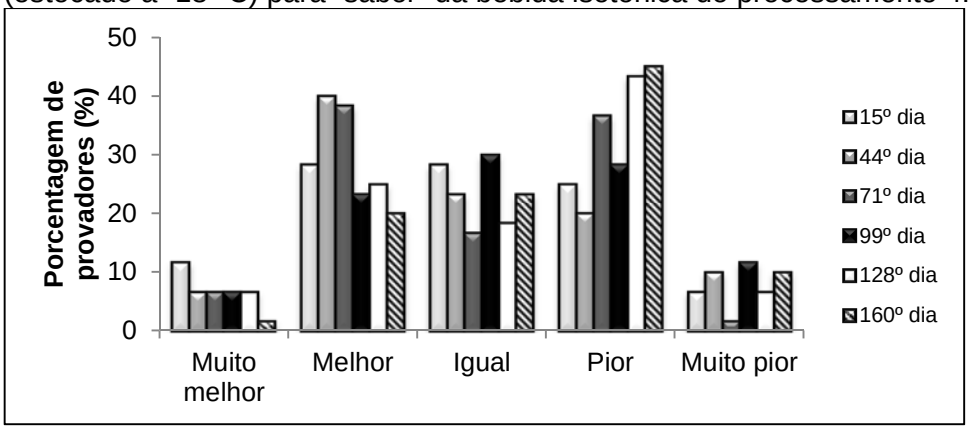


Figura 4.32: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “cor” da bebida isotônica do processamento 4.

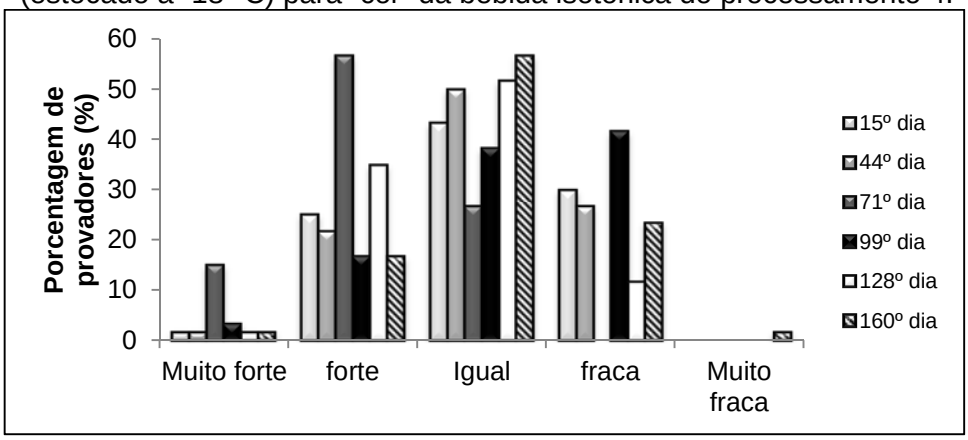


Figura 4.33: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “acidez” da bebida isotônica do processamento 4.

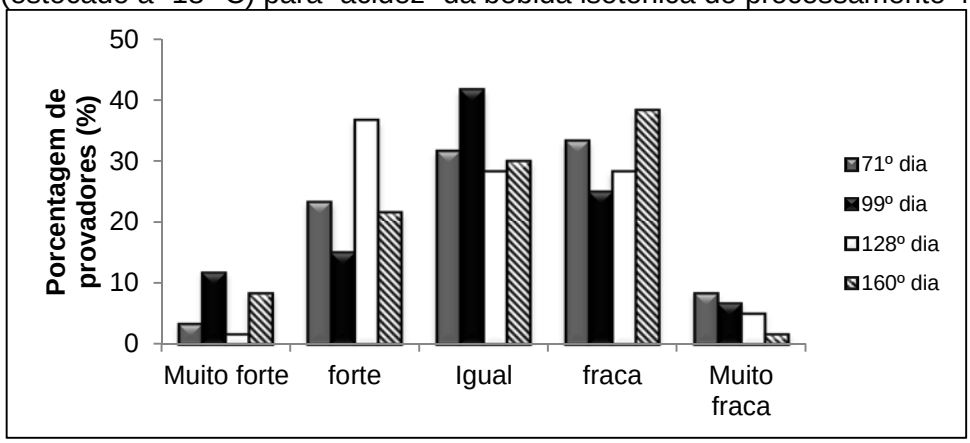


Figura 4.34: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “sabor” da bebida isotônica do processamento 5.

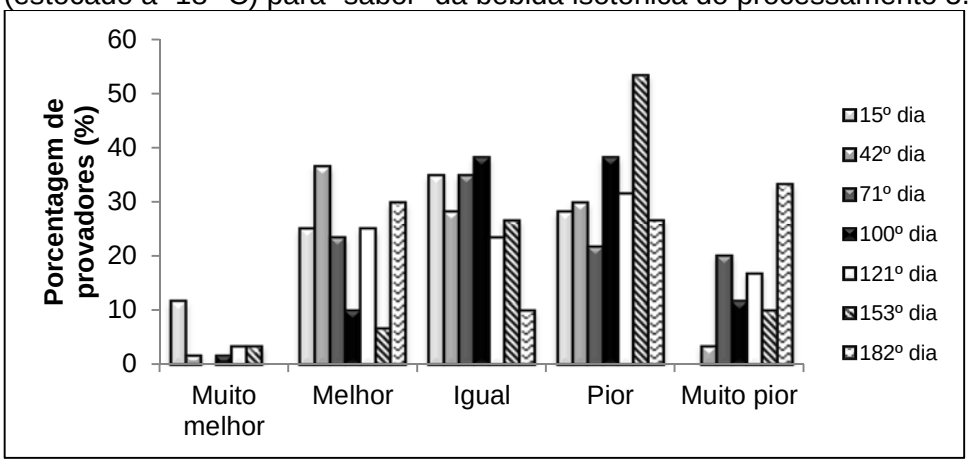


Figura 4.35: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “cor” da bebida isotônica do processamento 5.

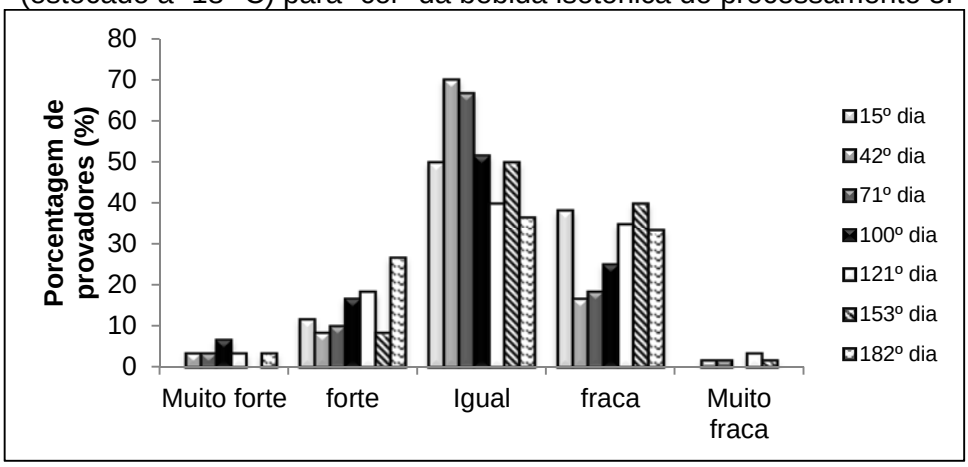


Figura 4.36: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “acidez” da bebida isotônica do processamento 5.

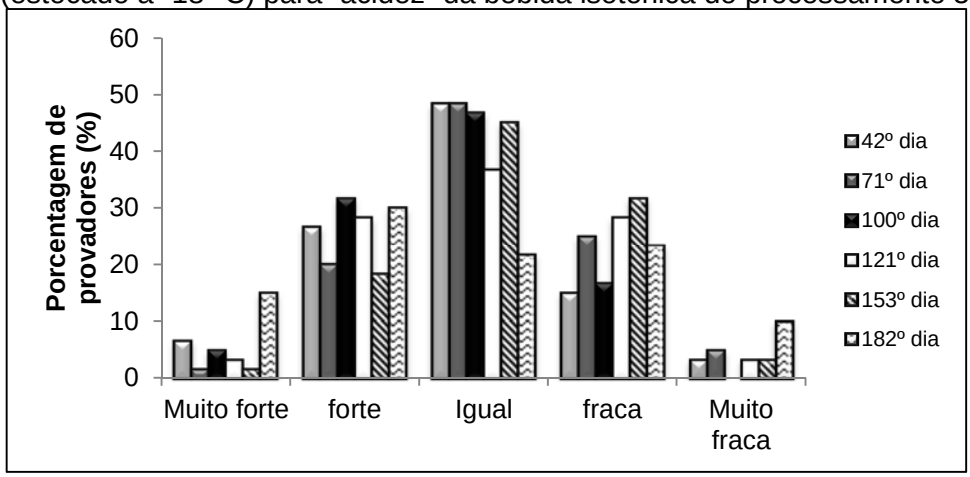


Figura 4.37: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “sabor” da bebida isotônica do processamento 6.

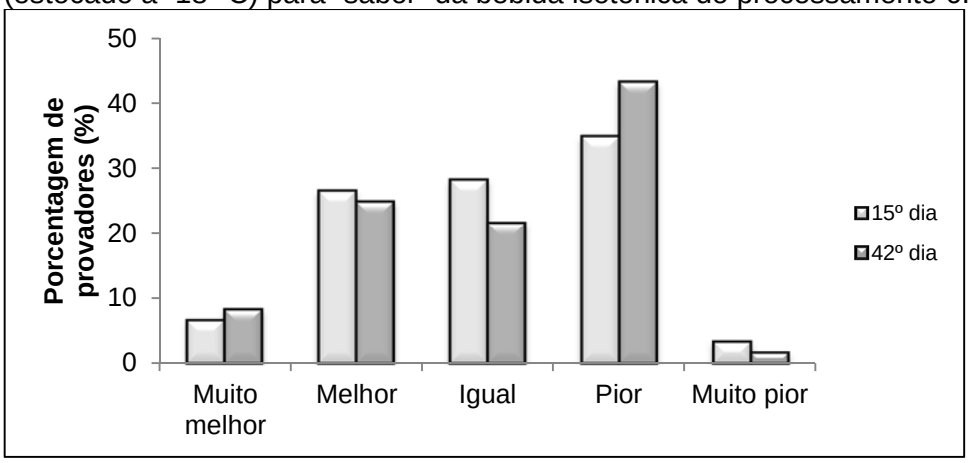


Figura 4.38: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “cor” da bebida isotônica do processamento 6.

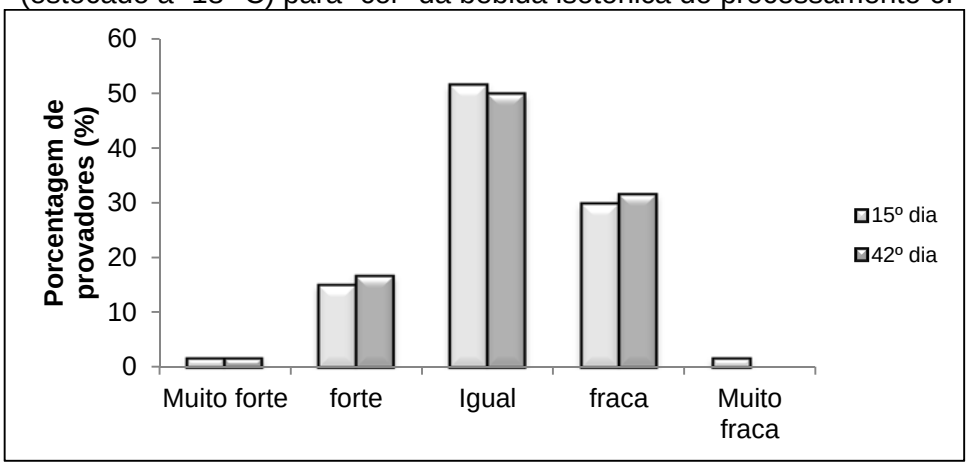


Figura 4.39: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “acidez” da bebida isotônica do processamento 6.

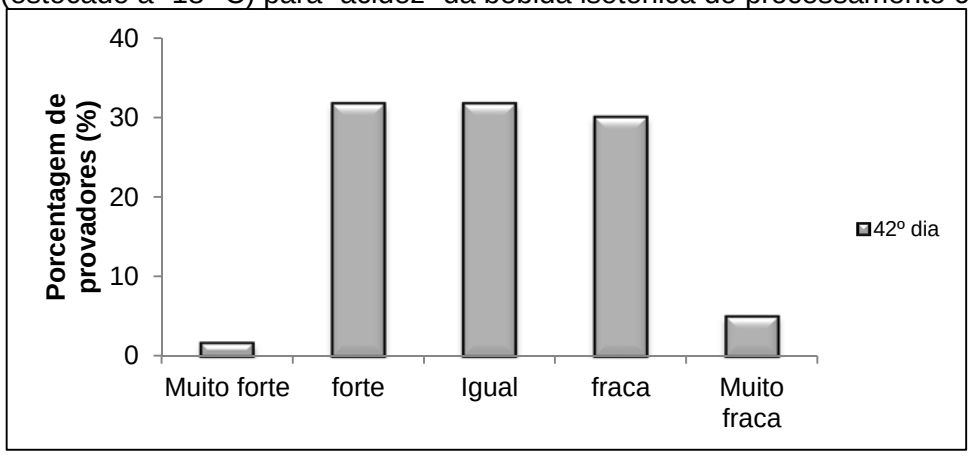


Figura 4.40: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “sabor” da bebida isotônica do processamento 7.

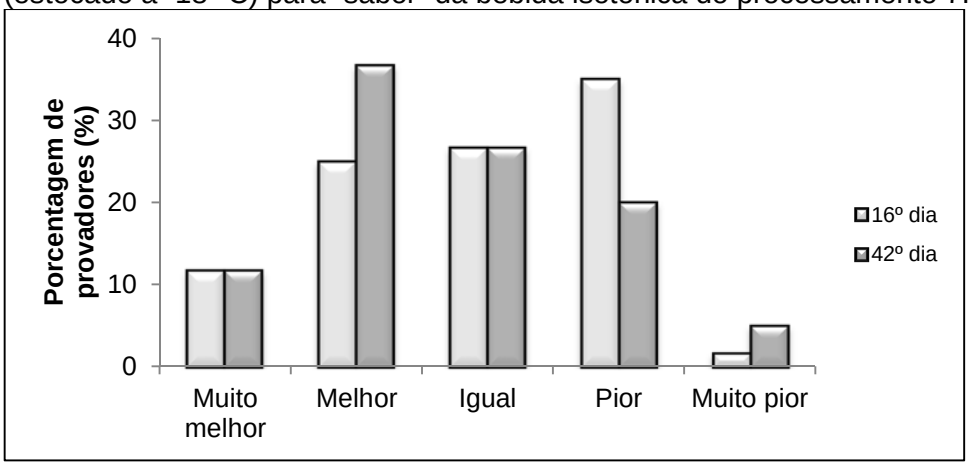


Figura 4.41: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “cor” da bebida isotônica do processamento 7.

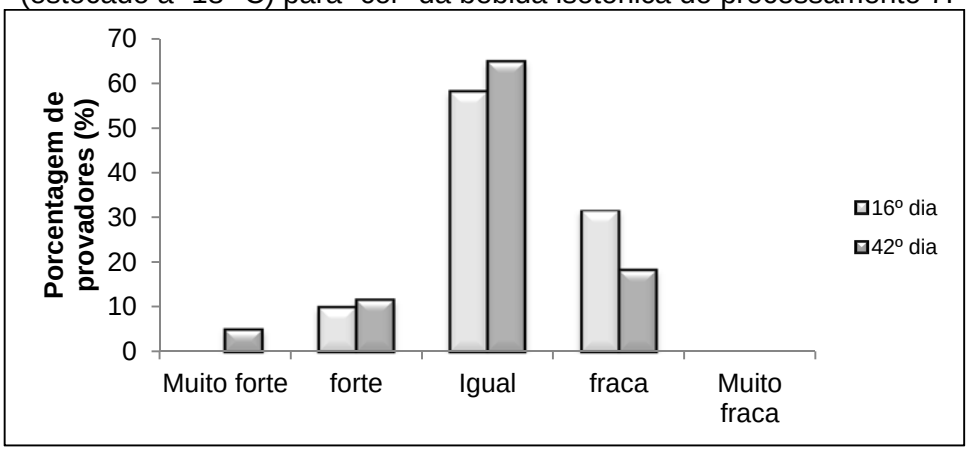
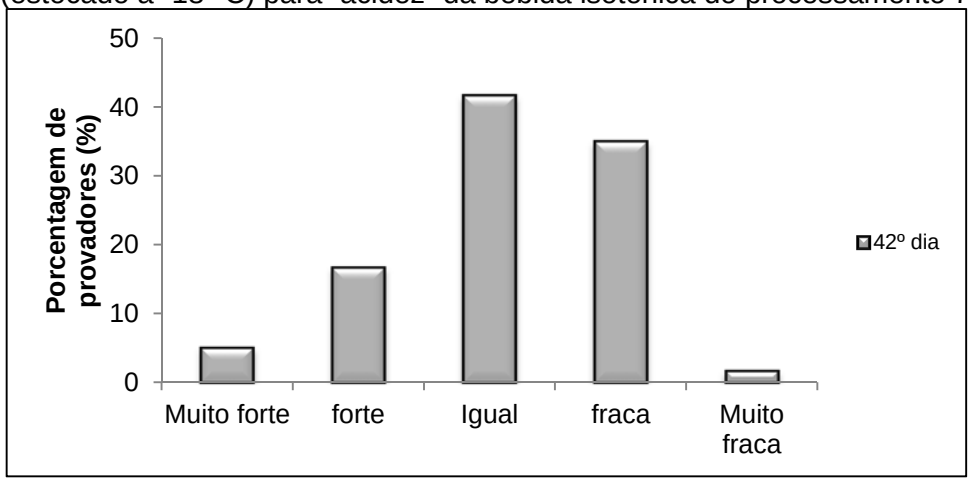


Figura 4.42: Diferença da amostra codificada (estocada a 25 °C) em relação à controle (estocado a -18 °C) para “acidez” da bebida isotônica do processamento 7.



Ao se fazer uma comparação mais detalhada com relação ao sabor, constata-se que mais de 60% dos julgadores consideraram que nas últimas duas sessões em que a bebida de P1 foi analisada (99 e 128 dias), esta obteve notas inferiores à amostra controle, porém, aquela ainda apresentou um índice de aceitação acima de 70%.

Em relação às amostras de P3, após 128 dias de estocagem, 80% dos provadores a consideraram pior ou muito pior que a amostra controle. Após esse período, a bebida atingiu notas abaixo da nota de corte tanto para a média do teste de Escala Hedônica (4,1), quanto para o índice de aceitação (36,7%).

Para P4 e P5, nas últimas duas sessões (128 e 160 dias para P4 e 153 e 182 dias para P5), 50% dos provadores julgaram as amostras piores que o controle. A amostra de P4 no 160º dia foi eliminada por não ter atingido o mínimo de aceitação estabelecido, e de P5 no 182º dia, por não atender aos dois fatores determinantes para a nota de corte.

A diminuição das notas do sabor da bebida com o passar do tempo, sugere a ocorrência de mecanismos de alteração da natureza química ou bioquímica da bebida para

os processamentos comercialmente esterilizados (P3, P4 e P5), e também de natureza microbiológica (produtos do metabolismo microbiano) para P1, P2, P6 e P7.

Na comparação mais detalhada para a acidez, os provadores tiveram uma tendência de achar a bebida menos ácida com o passar do tempo para os processamentos 1, 4 e 7. Já os processamentos 3 e 6 apresentaram uma distribuição normal, tendo a quantidade de provadores que julgaram a bebida mais ácida e menos ácida, com valores próximos. Porém, as análises físico-químicas mostram o contrário, um aumento significativo da acidez durante o período de estocagem. O único processamento em que os provadores apresentaram uma tendência em achar a bebida mais ácida foi para o processamento 5 (Tabela 4.5).

Com relação à cor, mais da metade dos avaliadores julgaram que as cores da amostra controle e da amostra codificada estavam iguais para os processamentos 5, 6 e 7, enquanto a outra parcela (aproximadamente 30%) dos provadores julgou a cor mais fraca. Para os processamentos 2 e 3, aproximadamente 60% dos avaliadores, não identificaram diferença entre as duas amostras. Para o processamento 1, a média dos provadores julgou a bebida com a cor mais fraca e para o processamento 4, a bebida foi considerada com cor igual a do controle no primeiro dia de análise, em seguida considerada mais forte e por último considerada mais fraca. Os dados físico-químicos para cor apresentam variações ao longo dos testes sensoriais e tais variações nem sempre foram percebidas pelos provadores. Fato este pode ser explicado por não terem sido utilizados provadores treinados, já que os testes físico-químicos (Tabela 4.6) mostram variação significativa ($p < 0,05$) para *L* a* b*.*

4.4.4.3 Análise de dados do delineamento fatorial

O delineamento fatorial possibilitou a avaliação do impacto dos binômios tempo de retenção x temperatura de pasteurização no pH, na acidez, no teor de sólidos solúveis, nos parâmetros de cor (*L* a* b**) e na aceitação sensorial da bebida ao longo do estudo de vida útil.

A análise estatística foi realizada apenas para as respostas obtidas nos tempos inicial (t_0) e final do estudo (Tabela 4.9). O t_0 das análises físico-químicas ocorreu no mesmo dia ou no dia seguinte ao processamento. Para a análise sensorial, o t_0 foi equivalente ao 15º dia após o processamento, devido ao tempo exigido para realização do teste de esterilidade comercial (item 4.3.3.2) (Tabela 4.10).

Tabela 4.9: Médias dos resultados das análises físico-químicas (pH, acidez titulável e teor de sólidos solúveis), dos parâmetros de cor (*L**, *a** e *b**) e dos testes sensoriais para os tempos inicial e final do estudo de vida útil dos sete lotes de bebida isotônica processados.

Variáveis independentes		Variáveis dependentes (respostas)													
Tempo de retenção (s)	Temperatura de pasteurização (°C)	Médias das análises físico-químicas												Médias de notas do teste de Escala Hedônica de 9 pontos	
		pH (t_0)	pH (t_{VU})	Acidez titulável (t_0)	Acidez titulável (t_{VU})	Sólidos solúveis (t_0)	Sólidos solúveis (t_{VU})	Cor						Impressão global (t_0)	Impressão global (t_{VU})
								*L** (t_0)	*L** (t_{VU})	*a** (t_0)	*a** (t_{VU})	*b** (t_0)	*b** (t_{VU})		
85	30	3,03	3,17	0,384	0,450	6,40	6,40	47,57	47,94	19,59	19,53	45,34	46,33	6,7	4,8
95	30	3,11	3,18	0,291	0,323	6,40	6,40	51,30	50,68	18,51	18,99	47,50	42,26	6,7	6,4
85	50	3,21	3,17	0,380	0,406	6,37	6,37	48,01	49,29	20,01	19,48	47,40	41,84	6,9	4,1
95	50	3,08	3,04	0,426	0,476	6,40	6,37	53,30	50,91	18,73	19,99	49,62	49,30	6,0	6,4
90	40	3,13	3,27	0,298	0,321	6,30	6,27	53,46	53,19	18,16	18,41	50,80	47,93	6,3	5,7
90	40	3,11	3,17	0,350	0,396	6,40	6,40	48,21	48,42	19,81	19,91	46,83	45,58	6,4	5,5
90	40	2,97	3,10	0,424	0,451	6,40	6,37	46,07	46,36	19,94	18,74	43,91	41,71	6,1	6,4

Acidez titulável medida em %(m/v) de ácido cítrico. Teor de sólidos solúveis medido em °Brix. t_0 = tempo zero (inicial) das amostras; $t_{(VU)}$ = tempo de vida útil (final) das amostras.

Tabela 4.10: Tempos inicial (t_0) e final (t_{VU}) das análises físico-químicas e sensoriais dos sete processamentos.

Processamento	Análises físico-químicas		Análises sensoriais	
	t_0 (dias)	$t_{(VU)}$ (dias)	t_0 (dias)	$t_{(VU)}$ (dias)
P1 (90 °C/40 s)	1	128	15	128
P2 (95 °C/30 s)	1	85	15	70
P3 (95 °C/50 s)	1	126	15	126
P4 (90 °C/40 s)	1	160	15	160
P5 (85 °C/30 s)	0	182	15	182
P6 (85 °C/50 s)	1	57	15	42
P7 (90 °C/40 s)	0	57	16	42

As Figuras 4.43 a 4.49 apresentam os diagramas de Pareto para as análises físico-químicas e sensoriais.

Figura 4.43: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) no pH da bebida isotônica, nos tempos inicial (A) e final (B).

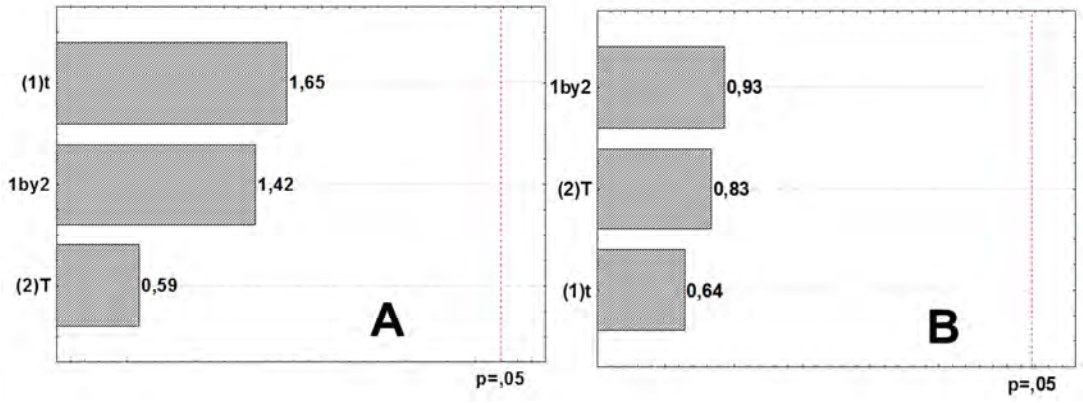


Figura 4.44: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) na acidez titulável da bebida isotônica, nos tempos inicial (A) e final (B).

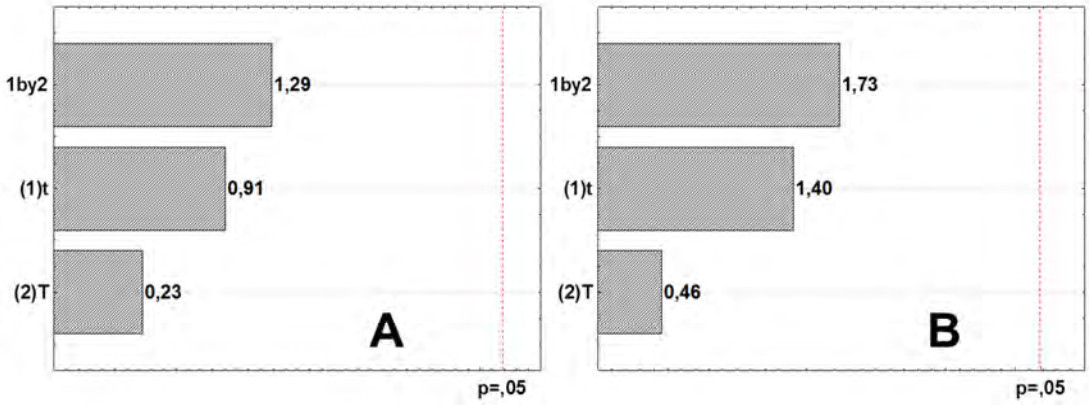


Figura 4.45: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) no teor de sólidos solúveis da bebida isotônica, nos tempos inicial (A) e final (B).

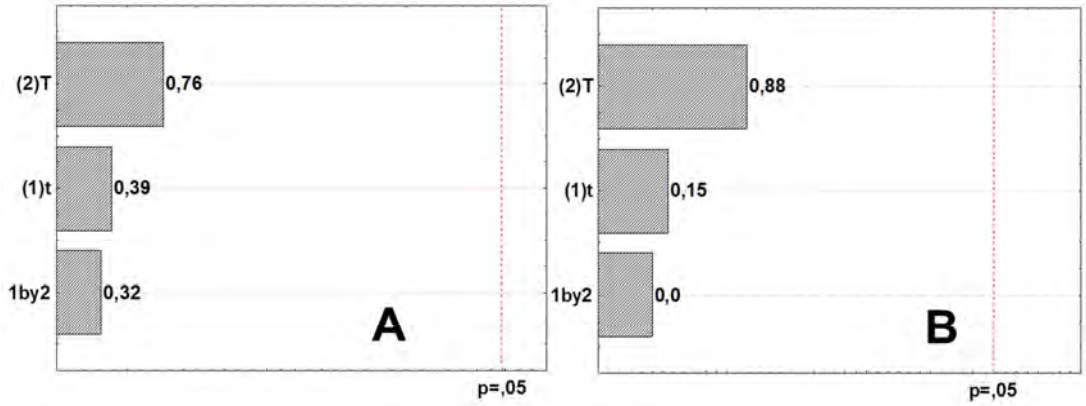


Figura 4.46: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) no parâmetro de cor L* da bebida isotônica, nos tempos inicial (A) e final (B).

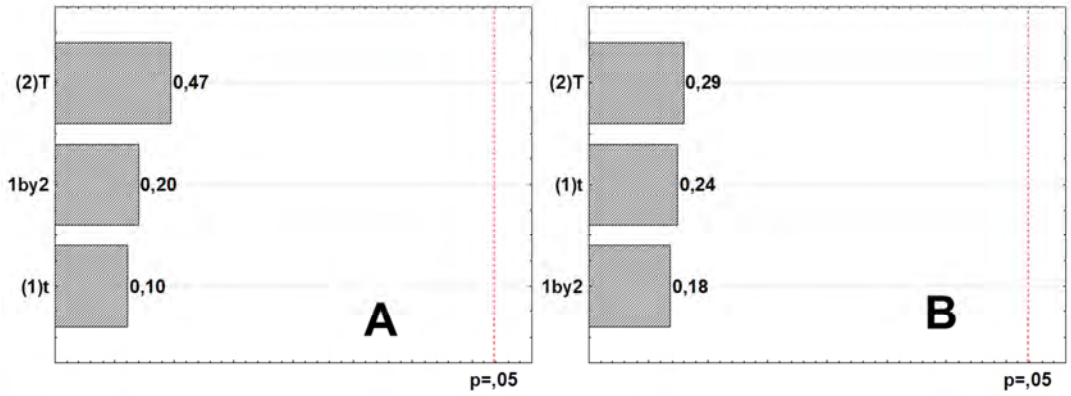


Figura 4.47: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) no parâmetro de cor a* da bebida isotônica, nos tempos inicial (A) e final (B).

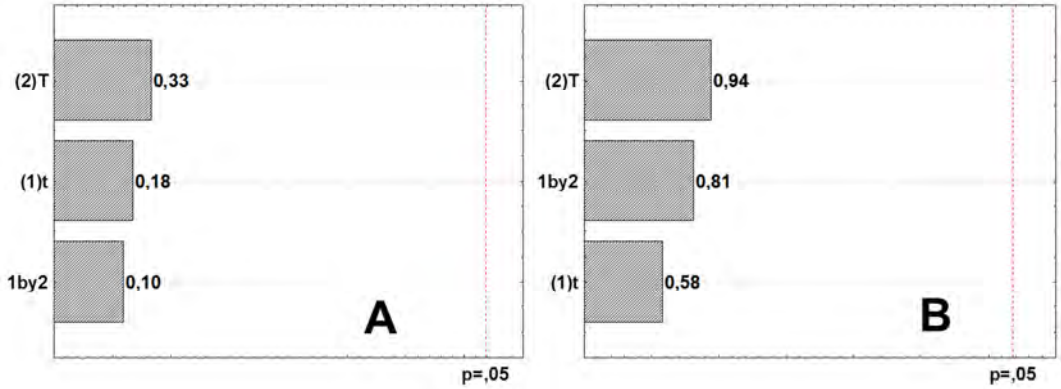


Figura 4.48: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) no parâmetro de cor b* da bebida isotônica, nos tempos inicial (A) e final (B).

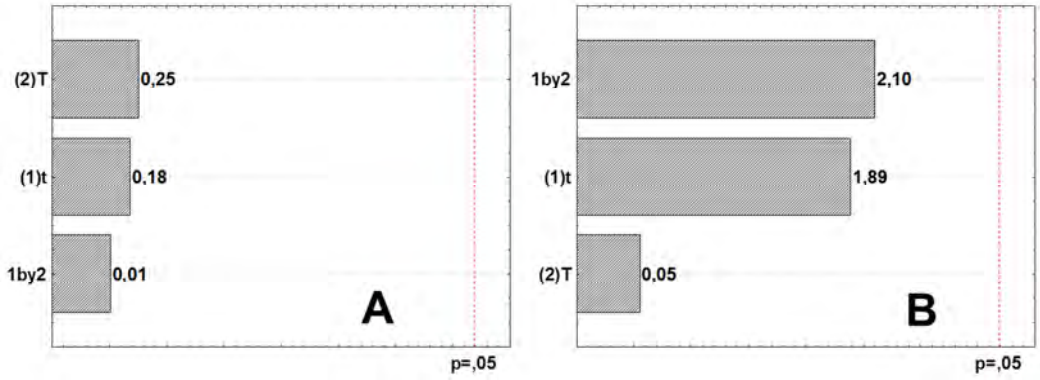
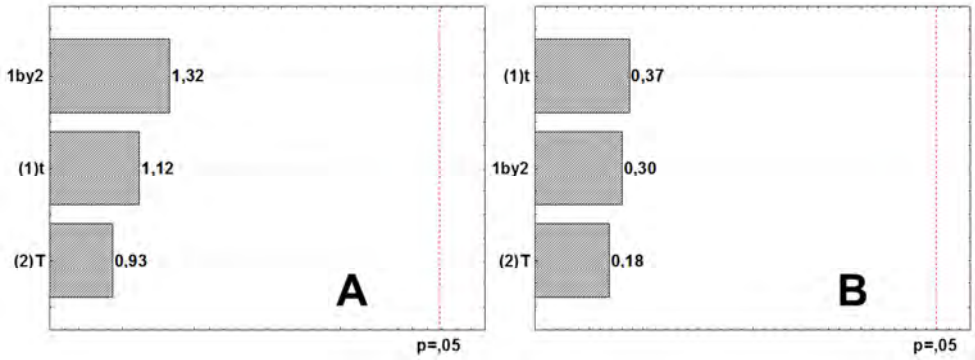


Figura 4.49: Diagramas de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) na impressão global da bebida isotônica, nos tempos inicial (A) e final (B).



Os diagramas de Pareto (Figuras 4.43 a 4.49) mostram que o tempo de retenção e a temperatura de pasteurização (nas faixas estudadas) não exerceram efeito significativo nas respostas investigadas, ao nível de 95% de confiança.

A Tabela 4.11 apresenta a análise de variância (ANOVA) dos resultados dos testes físico-químicos e sensoriais nos tempos inicial e final do estudo de vida útil.

Tabela 4.11: Análise de variância (ANOVA) para o delineamento fatorial 2^2 para os testes físico-químicos (pH, acidez titulável, teor de sólidos solúveis e parâmetros de cor *L**, *a** e *b**) e sensoriais nos tempos inicial (t_0) e final (t_{VU}) das análises (continua).

Resposta	Fonte de variação	Soma de Quadrados (SQ)	Graus de liberdade (GL)	Quadrados médios (QM)	Teste F	
					F_{calc}	F_{tab}
pH (t_0)	Regressão (R)	0,0277	1	0,0277	**8,50**	**6,61**
	Residual (r)	0,0163	5	0,0033	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	0,0440			$F_{calc} > F_{tab}$	
	R^2	**0,53**				
pH (t_{VU})	Regressão (R)	0,0111	1	0,0111	**3,26**	**6,61**
	Residual (r)	0,0170	5	0,0034	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	0,0281			$F_{calc} < F_{tab}$	
	R^2	**0,45**				
Acidez titulável (t_0)	Regressão (R)	0,0070	1	0,0070	**4,02**	**6,61**
	Residual (r)	0,0087	5	0,0017	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	0,0157			$F_{calc} < F_{tab}$	
	R^2	**0,52**				
Acidez titulável (t_{VU})	Regressão (R)	0,0167	1	0,0167	**8,61**	**6,61**
	Residual (r)	0,0097	5	0,0019	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	0,0264			$F_{calc} > F_{tab}$	
	R^2	**0,58**				
Sólidos solúveis (t_0)	Regressão (R)	0,0019	1	0,0019	**1,42**	**6,61**
	Residual (r)	0,0067	5	0,0013	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	0,0086			$F_{calc} < F_{tab}$	
	R^2	**0,21**				

F_{tab} com limite de 95% de confiança.

Tabela 4.11: Análise de variância (ANOVA) para o delineamento fatorial 2^2 para os testes físico-químicos (pH, acidez titulável, teor de sólidos solúveis e parâmetros de cor *L**, *a** e *b**) e sensoriais nos tempos inicial (t_0) e final (t_{VU}) das análises (conclusão).

Resposta	Fonte de variação	Soma de Quadrados (SQ)	Graus de liberdade (GL)	Quadrados médios (QM)	Teste F	
					F_{calc}	F_{tab}
Sólidos solúveis (t_{VU})	Regressão (R)	0,0025	1	0,0025	**1,33**	**6,61**
	Residual (r)	0,0094	5	0,0019	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	0,0119			$F_{calc} < F_{tab}$	
	R^2	**0,26**				
***L** (t_0)**	Regressão (R)	4,287	1	4,287	**0,46**	**6,61**
	Residual (r)	46,8442	5	9,3688	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	51,1312			$F_{calc} < F_{tab}$	
	R^2	**0,11**				
***L** (t_{VU})**	Regressão (R)	1,6938	1	1,6938	**0,29**	**6,61**
	Residual (r)	28,7411	5	5,7482	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	30,4349			$F_{calc} < F_{tab}$	
	R^2	**0,06**				
***a** (t_0)**	Regressão (R)	0,1604	1	0,1604	**0,25**	**6,61**
	Residual (r)	3,2601	5	0,6520	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	3,4205			$F_{calc} < F_{tab}$	
	R^2	**0,07**				
***a** (t_{VU})**	Regressão (R)	0,7894	1	0,7894	**3,13**	**6,61**
	Residual (r)	1,2600	5	0,2520	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	2,0494			$F_{calc} < F_{tab}$	
	R^2	**0,41**				
***b** (t_0)**	Regressão (R)	0,9024	1	0,9024	**0,16**	**6,61**
	Residual (r)	28,2510	5	5,6502	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	29,1534			$F_{calc} < F_{tab}$	
	R^2	**0,15**				
***b** (t_{VU})**	Regressão (R)	60,2203	1	60,2203	**13,31**	**6,61**
	Residual (r)	22,6176	5	4,5235	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	82,8379			$F_{calc} > F_{tab}$	
	R^2	**0,61**				
Impressão global (t_0)	Regressão (R)	0,4178	1	0,4178	**6,45**	**6,61**
	Residual (r)	0,3238	5	0,0648	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	0,7416			$F_{calc} < F_{tab}$	
	R^2	**0,49**				
Impressão global (t_{VU})	Regressão (R)	0,3719	1	0,3719	**0,43**	**6,61**
	Residual (r)	4,3194	5	0,8639	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	4,6913			$F_{calc} < F_{tab}$	
	R^2	**0,06**				

F_{tab} com limite de 95% de confiança.

Em relação aos resultados da Tabela 4.11 é importante salientar que mesmo que os valores de F_{calc} tenham sido superiores a F_{tab} para o pH em t_0, para a acidez em t_{VU} e para o parâmetro *b** em t_{VU}, os coeficientes de determinação (R^2) foram baixos (< 80%) (RODRIGUES; IEMMA, 2005). Isso indica que os resultados obtidos não se ajustariam adequadamente a um modelo matemático, ou seja, as variáveis tempo de retenção (t) e temperatura de pasteurização (T) não influenciaram significativamente as respostas investigadas, nos tempos inicial e final do estudo de vida útil.

4.4.5 Estimativa da vida útil

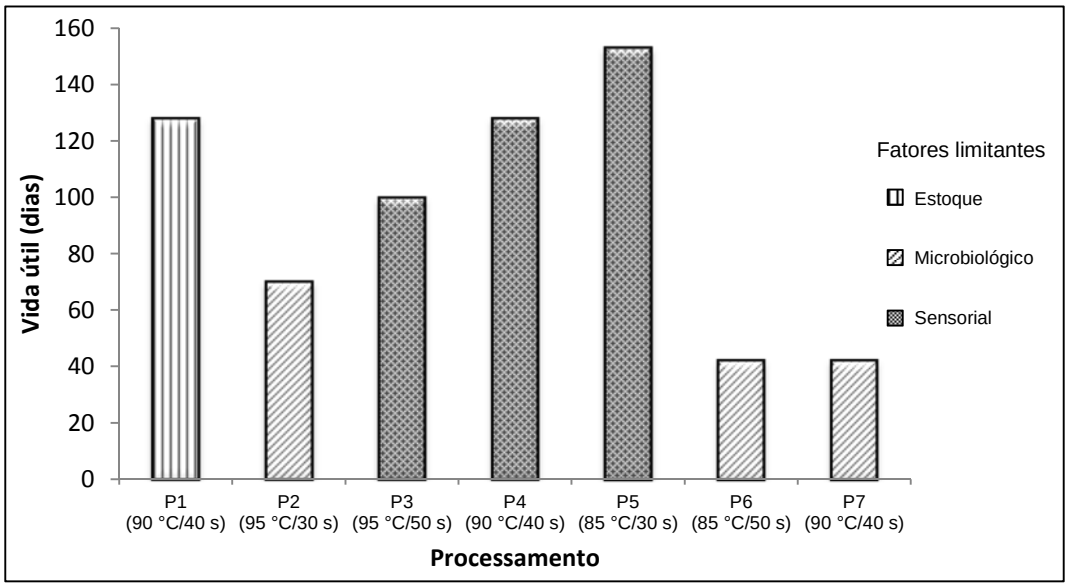
A Tabela 4.12 apresenta os tempos de vida útil estimados para os sete lotes processados assim como o fator determinante na sua definição, em conformidade com os critérios pré-estabelecidos.

Tabela 4.12: Tempos de vida útil da bebida isotônica desenvolvida a partir do soro de ricota, acondicionada em garrafas de PET pigmentadas (TiO_2) estocadas a 25 ºC na ausência de luz.

Lote	Vida útil (dias)	Fator limitante	Considerações
L1 (90 °C/40 s)	128	Estoque	O estoque de amostra esgotou-se antes do término das análises
L2 (95 °C/30 s)	70	Microbiológico	Amostra com sinais de deterioração com 98 dias
L3 (95 °C/50 s)	100	Sensorial	Amostra rejeitada no 126º dia na análise sensorial
L4 (90 °C/40 s)	128	Sensorial	Amostra rejeitada no 160º dia na análise sensorial
L5 (85 °C/30 s)	153	Sensorial	Amostra rejeitada no 182º dia na análise sensorial
L6 (85 °C/50 s)	42	Microbiológico	Amostra com sinais de deterioração com 70 dias
L7 (90 °C/40 s)	42	Microbiológico	Amostra com sinais de deterioração com 72 dias

A Figura 4.50 representa graficamente as variações entre os tempos de vida útil estimados para os sete lotes processados.

Figura 4.50: Representação gráfica das variações dos tempos de vida útil estimados para a bebida isotônica desenvolvida.



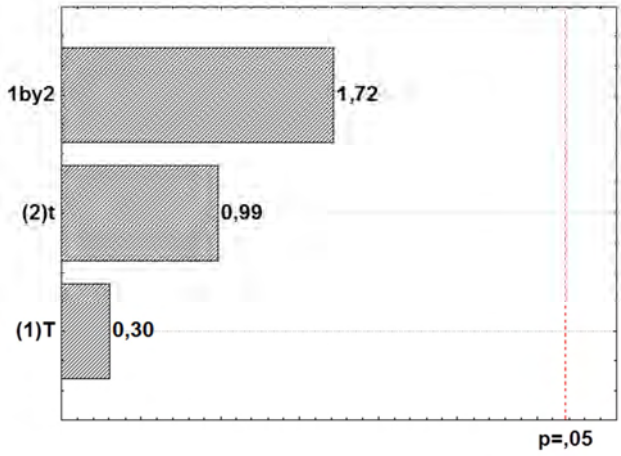
A Figura 4.50 revela uma grande variação nos tempos de vida útil estimados, notadamente entre os lotes P6/P7 (42 dias) e P5 (153 dias).

De acordo com Guillet e Rodrigue (2010), um erro comum em testes de vida útil, denominado “intervalo de censura”, pode ocorrer quando os intervalos entre as análises são longos, sendo desta maneira, muito difícil estabelecer o fim de vida útil da amostra, pois pode-se atribuir uma vida útil ao produto muito inferior ao que realmente possui. Com isso, as avaliações a partir de 100 dias de estocagem, poderiam ter sido realizadas quinzenalmente, ou até mesmo, semanalmente.

Relacionando-se os resultados da Tabela 4.12 (lotes que alcançaram a esterilidade comercial apresentaram maior vida útil, exceto P1) com as respostas da análise estatística representadas pelas Figuras 3.11, 3.12 e 3.13 do Capítulo 3 (menores tempos de retenção resultaram em uma bebida de melhor sabor), constatou-se que o lote 5 (pasteurizado a 85 °C/30 s) apresentou os melhores resultados, no tocante à estabilidade microbiológica e sensorial.

Para verificar se o tempo de retenção e a temperatura de pasteurização tiveram efeitos significativos na vida útil, realizou-se a análise de efeitos principais e interação de primeira ordem para o delineamento fatorial 2^2 com 3 pontos centrais. A Figura 4.51 apresenta o diagrama de Pareto e a Tabela 4.13 a análise de variância dos resultados.

Figura 4.51: Diagrama de Pareto para análise de efeitos da temperatura de pasteurização (T) e do tempo de retenção (t) na vida útil da bebida.



De acordo com o diagrama apresentado na Figura 4.51, nenhum efeito avaliado revelou-se significativo na vida útil do produto, ao nível de 95% de confiança.

Tabela 4.13: Análise de variância (ANOVA) para estimativa da vida útil do isotônico.

Resposta	Fonte de variação	Soma de Quadrados (SQ)	Graus de liberdade (GL)	Quadrados médios (QM)	Teste F	
					F_{calc}	F_{tab}
Vida útil (dia)	Regressão (R)	6766,75	1	6766,75	**6,71**	**6,61**
	Residual (r)	5042,68	5	1008,53	(QM_R/QM_r)	($F_{95\%, 1 e 5}$)
Modelo linear ($p \leq 0,05$)	Total (T)	11809,43			**$F_{calc} > F_{tab}$**	
	R^2	**0,57**				

F_{tab} com limite de 95% de confiança.

Embora o valor de F_{calc} seja superior ao F_{tab}, o coeficiente de determinação (R^2 = 57%) é considerado baixo (inferior a 80%) (RODRIGUES; IEMMA, 2005), impedindo a modelagem matemática dos dados.

Estes resultados estão alinhados com as respostas obtidas na avaliação da esterilidade comercial do produto (item 4.4.1.2), segundo as quais o binômio tempo x temperatura não exerceu influência na esterilidade comercial dos lotes, uma vez que aqueles processados em toda a faixa de binômios estudados (P1, P2, P6 e P7) não alcançaram a esterilidade comercial.

4.5 CONCLUSÕES

Os lotes da bebida isotônica desenvolvida a partir do soro de ricota submetidos ao tratamento térmico mais brando (85 °C/30 s), intermediário (90 °C/40 s) e mais severo (95 °C/50 s) alcançaram a esterilidade comercial. Posto isto, conclui-se que o binômio tempo x temperatura empregado na pasteurização, na faixa estudada, não influenciou a estabilidade microbiológica da bebida.

O tempo de retenção e a temperatura de pasteurização não apresentaram efeitos significativos nas respostas obtidas a partir dos testes físico-químicos e da avaliação da impressão global do produto, nos tempos inicial e final do estudo do tempo de vida útil.

Conclui-se, finalmente, que o lote processado a 85 °C por 30 s apresentou as melhores características sensoriais e vida útil mais estendida (153 dias), considerada satisfatória para uma eventual comercialização.

4.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, R.M.V.; GARCIA, E.E.C. **Embalagem para sucos de frutas**. Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.23, n.2, p.105-122, 1993.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 19th ed. Arlington: AOAC, 2012.

ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING OF MATERIALS. **E2454 Standard.** Standard guide for sensory evaluation methods to determine the sensory shelf life of consumer products. West Conshohocken, PA: American Society for Testing of Materials, 2005.

BIBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Química do processamento de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Varela, 2001.

BRASIL. Resolução nº 18, de 27 de setembro de 2010. Aprovação, regulamento técnico, alimento para praticante de atividade física, atleta profissional, composição dos alimentos, rotulagem, suplemento alimentar. **Diário Oficial da União**, Seção I, p. 211, 2010.

CERF, O. **Aseptic processing in the food industry – statical control of UHT milk**. In: REUTER, H. Aseptic Packaging of Food. Hamburg: Technomic, 1988. Cap.6.2, p.244-257.

CHÁVEZ, J.E.T. **Utilización del ultrafiltrado de suero pasteurizado del queso para el desarrollo de una bebida isotónica**, 2001. Disponível em: < http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1332/1/T1263.pdf>. Acessado em: 27 jan 2015.

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

FERREIRA, V.L.P.; ALMEIDA, T.C.A.; PETTINELLI, M.L.C.V.; SILVA, M.A.A.P.; CHAVES, J.P.B.; BARBOSA, E.M.M. **Análise Sensorial**: Testes Discriminativos e Afetivos. Campinas: SBCTA, p.127, 2000.

FONTES, E.A.F.; ALVES, Y.P.C.; FONTES, P.R.; MINIM, V.P.R. Bebida eletrolítica a base de permeado da ultrafiltração de leite: avaliação física, química e microbiológica durante o armazenamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.2, p.342-348, 2015.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. **Corantes**. 2009. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/106.pdf>. Acessado em: 5 jul. 2015.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

GRAUMLICH, T. R.; MARCY, J. E.; ADAMS, J. P. Asseptically packaged orange juice and concentrate: a review of the influence of processing and packaging conditions on quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.34, n.3, p.402-405, 1986.

GUILLET, M.; RODRIGUE, N. In: ROBERTSON, G. L. **Food packaging and shelf life**: a practical guide. Boca Raton: CRC Press LLC, 2010, cap. 3, p. 35.

HOUGH, G. **Sensory shelf life estimation of products**. New York: CRC Press, 2010.

IFST – INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY. **Shelf life in foods**: guidelines for its determination and prediction. London: Institute of Food Science & Technology, 1993.

KRONES NEWS. **Enchimento asséptico a frio**: uma tendência. 2008. Disponível em: <http://www.krones.com.br/Boletim/Edicao73/materia7.htm>. Acessado em: 26 jan. 2015.

LEWIS, D.; SPOMER, D.; SMITH, M.; CLARK, W.; MARSHALL, R.T. **Milk and milk products standards**. In: WEHR,H.M.; FRANK, J.F. (editores), Standard Methods for the Examination of Dairy Products, Cap 16. Washington, 2004.

MACEDO, J. A. B. **Métodos laboratoriais de análise físico-químico e microbiológicas**. Juiz de Fora: Jorge Macedo, 2001.

MARTINS, R.C.; CHIAPETTA, S.C.; PAULA, F.D.; GONÇALVES, E.C.B.A. Avaliação da vida de prateleira de bebida isotônica elaborada com suco concentrado de frutas e hortaliças congelado por 30 dias. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.22, n.4, p.623-629, 2011.

MAO, L.C.; XU, Y.Q.; QUE, F. Mantaining the quality of sugarcane juice with blaching and ascorbic acid. **Food Chemistry**, Amsterdam, v.104, p.740-745, 2007.

MORI, E.E.M. Determinação da vida de prateleira através da análise sensorial e correlações. In MOURA, S.C.S.R.; GERMER, S.P.M. **Manual do curso de reações de transformação e vida de prateleira de alimentos processados**. Campinas: ITAL, 2002.

OSTROSKI, I.; BARICCATTI, R.A.; LINDINO, C.A. **Estabilidade dos corantes Tartrazina e Amarelo Crepúsculo em refrigerantes**. Acta Scientiarum Technology, Maringá, v.27, n.2, p.101-106, 2005.

PETRUS, R.R.; FARIA, J.A.F. Processamento e avaliação de estabilidade de bebida isotônica em garrafa plástica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.3, p.518-524, 2005.

RODRIGUES, M.I.; IEMMA, A.F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. Campinas: Casa do Pão, 2005.

SANKHLA, S.; CHATURVEDI, A.; KUNA, A.; DHANLAKSHMI, K. Preservation of sugarcane juice using hurdle technology. **Sugar Tech**, New Delhi, v.14, n.1, p.26–39, 2012.

SANSONETTI, S.; CURCIO, S.; CALABRÒ, V.; IORIO, G. Bio-ethanol production by fermentation of ricotta cheese whey as an effective alternative non-vegetable source. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v.33, n.12, p.1687-1692, 2009.

SANTOS, E.S.M.; ALVES, R.M.; LIMA, C.S. Elaboração tecnológica e aceitação sensorial de bebida isotônica orgânica de tangerina (*Citrus reticulada* Blanco). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.72, n.1, p.87-92, 2013.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. São Paulo: Varela, 4ª ed. 2010.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 3 ed. London: Academic Press, 2004.

VON BOCKELMANN, B. Processamento asséptico e empacotamento de produtos alimentícios líquidos (leite, creme, água, sucos). **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.31, n.185, p.11-18, 1976.

CONCLUSÕES GERAIS

As conclusões gerais deste trabalho são:

- O soro de ricota pode ser destinado à elaboração de uma bebida isotônica palatável, sendo esta uma alternativa tecnológica viável para agregação de valor a um subproduto da indústria de laticínios que é normalmente descartado.
- A combinação de tecnologias utilizadas (acidificação, pasteurização e envase asséptico) no processamento e acondicionamento da bebida revelou-se eficiente para alcançar significativa redução da carga microbiana inicial e boa aceitação sensorial do produto desenvolvido.
- Menores tempos de retenção empregados na pasteurização (dentro da faixa estudada) resultaram em maior aceitação do sabor da bebida desenvolvida.
- A esterilidade comercial foi alcançada apenas para três lotes produzidos.
- O lote processado a 85 °C por 30 s apresentou as melhores características sensoriais e vida útil mais estendida (153 dias), considerada satisfatória para uma eventual comercialização.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

As sugestões apresentadas para eventuais estudos futuros incluem:

- Incorporação de polpa de frutas e corantes naturais ao suplemento hidroeletrolítico produzido com soro de ricota.
- Elaboração de um plano detalhado de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) visando um processamento em escala superior a realizada nesta pesquisa.
- Realização de uma análise sensorial descritiva para melhor caracterização do produto.

ANEXO

Anexo 1: Máxima distância entre as amostras (valor crítico entre os montantes de classificação) (p >0,10)

	Nr of samples									
Nr of panelists	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
20	13	18	23	30	37	43	49	56	62	68
21	13	19	24	31	37	44	50	57	64	70
22	14	20	25	32	38	45	51	59	65	72
23	14	20	25	33	40	46	53	60	66	74
24	14	21	26	34	40	47	54	61	68	75
25	14	21	26	34	41	48	55	62	69	77
26	15	21	27	35	42	49	56	63	71	78
27	15	22	27	36	43	50	57	64	73	80
28	15	22	28	36	43	50	58	66	74	81
29	16	22	28	37	44	51	60	67	75	83
30	16	23	29	37	45	53	60	68	76	84
31	16	23	29	38	46	53	61	69	77	85
32	16	24	29	38	46	54	63	70	78	87
33	17	24	30	39	47	55	64	71	80	88
34	17	24	31	40	48	56	64	72	81	90
35	17	25	31	41	49	57	65	73	82	91
36	17	25	32	41	49	58	66	75	83	93
37	18	25	32	41	50	58	67	76	85	94
38	18	26	32	42	50	59	68	76	86	95
39	18	26	33	43	51	60	69	78	87	96
40	18	26	33	44	52	61	70	79	88	97
41	18	27	34	43	53	61	71	80	88	99
42	19	27	34	44	53	62	72	81	90	100
43	19	27	35	45	54	63	72	82	91	101
44	19	28	35	45	54	64	73	83	93	102
45	19	28	35	46	55	65	74	84	94	104
46	20	28	36	46	55	65	75	84	95	104
47	20	29	36	47	56	66	75	85	95	105
48	20	29	37	47	57	66	76	86	96	106
49	21	29	37	48	57	67	77	87	97	108
50	20	29	37	49	58	69	78	89	98	108
51	21	30	37	48	59	69	79	89	100	110
52	21	30	38	49	59	69	80	90	100	112
53	21	30	39	50	60	70	81	90	102	113
54	21	31	39	50	61	71	81	91	102	113
55	21	31	39	51	61	71	82	92	103	114
56	22	31	39	51	62	72	83	94	105	115
57	22	32	40	52	62	73	83	95	106	117
58	22	32	40	52	62	73	84	95	106	118
59	22	32	40	53	64	74	84	95	107	119
60	22	32	41	53	64	74	86	96	108	119
61	23	33	41	53	64	75	86	98	109	121
62	23	33	42	54	65	76	87	98	109	121
63	23	33	42	54	65	76	88	99	110	123
64	23	34	42	54	66	77	89	100	112	124
65	23	34	42	55	66	77	88	100	112	125
66	23	34	43	56	66	78	89	101	114	126
67	24	34	43	56	67	78	90	102	114	126
68	24	35	43	56	67	79	91	103	115	128

Fonte: Christensen et al., 2006

APÊNDICE

Apêndice A: Ficha de avaliação sensorial do teste de Ordenação-Preferência.

Nome: _____ Data: _____

Você está recebendo 7 amostras de isotônico codificadas. Por favor, avalie as amostras da esquerda para a direita e indique em ordem crescente o sabor menos preferido para o mais preferido.

_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Amostra menos preferida	Amostra preferida em 6º lugar	Amostra preferida em 5º lugar	Amostra preferida em 4º lugar	Amostra preferida em 3º lugar	Amostra preferida em 2º lugar	Amostra mais preferida

Comentários: _____

Apêndice B: Ficha de avaliação sensorial para os testes de Escala do Ideal e Escala Hedônica.

Nome:_____ Data:_____

Por favor, prove a amostra de isotônico sabor tangerina e indique, utilizando a escala abaixo, o quão próximo do ideal estão os seguintes atributos.

Número da amostra:_____

Cor laranja	( ) Muito fraca	( ) Fraca	( ) Ideal	( ) Forte	( ) Muito forte
Odor de tangerina	( ) Muito fraco	( ) Fraco	( ) Ideal	( ) Forte	( ) Muito forte
Sabor de tangerina	( ) Muito fraco	( ) Fraco	( ) Ideal	( ) Forte	( ) Muito forte
Acidez	( ) Pouquíssimo ácida	( ) Pouco ácida	( ) Ideal	( ) Ácida	( ) Extremamente ácida
Doçura	( ) Pouquíssimo doce	( ) Pouco doce	( ) Ideal	( ) Doce	( ) Extremamente doce
Gosto salgado	( ) Muito fraco	( ) Fraco	( ) Ideal	( ) Forte	( ) Muito forte

Agora indique o quanto você gostou da amostra:

( ) Gostei muitíssimo
( ) Gostei muito
( ) Gostei moderadamente
( ) Gostei ligeiramente
( ) Nem gostei/nem desgostei
( ) Desgostei ligeiramente
( ) Desgostei moderadamente
( ) Desgostei muito
( ) Desgostei muitíssimo

Comentários:_____
_____

Apêndice C: Ficha de avaliação sensorial para o teste de Escala Hedônica.

Nome:_____ Data:_____

Por favor, prove a amostra de isotônico sabor tangerina e indique, utilizando a escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou da amostra com relação ao sabor, aroma e aparência.

Número da amostra:_____

9 – Adorei
8 – Gostei muito
7 – Gostei moderadamente
6 – Gostei ligeiramente
5 – Nem gostei/nem desgostei
4 – Desgostei ligeiramente
3 – Desgostei moderadamente
2 – Desgostei muito
1 – Detestei

Nota para SABOR: _____
Nota para AROMA: _____
Nota para APARÊNCIA:_____

Comentários:_____

Apêndice D: Ficha de avaliação sensorial para o teste de Diferença do Controle e de Escala Hedônica Estruturada de nove pontos, para avaliação da vida útil da bebida.

Nome:_____ Data:_____

Você está recebendo 2 amostras de isotônico sabor tangerina. Uma amostra é a padrão (P) e a outra amostra está codificada. Por favor, prove a amostra padrão e em seguida a amostra codificada e em seguida, circule, nas escalas abaixo, o grau de diferença entre as amostras com relação ao sabor, cor e acidez.

Número da amostra:_____

1 Sabor muito melhor que P	**1** Cor muito mais forte que P	**1** Acidez muito mais forte que P
2 Sabor ligeiramente melhor que P	**2** Cor ligeiramente mais forte que P	**2** Acidez ligeiramente mais forte que P
3 Sabor igual a P	**3** Cor igual a P	**3** Acidez igual a P
4 Sabor ligeiramente inferior que P	**4** Cor ligeiramente mais fraca que P	**4** Acidez ligeiramente mais fraca que P
5 Sabor muito inferior que P	**5** Cor muito mais fraca que P	**5** Acidez muito mais fraca que P

Agora, indique o quanto você gostou das amostras marcando um X no campo indicado para cada amostra:

Amostra P	Amostra Codificada
( ) Gostei muitíssimo	( ) Gostei muitíssimo
( ) Gostei muito	( ) Gostei muito
( ) Gostei moderadamente	( ) Gostei moderadamente
( ) Gostei ligeiramente	( ) Gostei ligeiramente
( ) Não gostei/nem desgostei	( ) Não gostei/nem desgostei
( ) Desgostei ligeiramente	( ) Desgostei ligeiramente
( ) Desgostei moderadamente	( ) Desgostei moderadamente
( ) Desgostei muito	( ) Desgostei muito
( ) Desgostei muitíssimo	( ) Desgostei muitíssimo

Comentários: _____
_____