UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

IVANA MORAIS GEREMIAS DE ANDRADE

**Estimativa da vida de prateleira de caldo de cana padronizado estocado
sob refrigeração**

Pirassununga

2014

IVANA MORAIS GEREMIAS DE ANDRADE

**Estimativa da vida de prateleira de caldo de cana padronizado estocado
sob refrigeração**

“Versão Corrigida”

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

Área de concentração: Ciências da
Engenharia de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues
Petrus

Pirassununga

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

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

A553e Andrade, Ivana Moraes Geremias de
 Estimativa da vida de prateleira de caldo de cana
 padronizado estocado sob refrigeração / Ivana Moraes
 Geremias de Andrade. -- Pirassununga, 2014.
 162f.
 Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e
 Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
 Departamento de Engenharia de Alimentos.
 Área de Concentração: Ciência da Engenharia de
 Alimentos.
 Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Petrus.

 1. Garapa 2. Delineamento fatorial 3. Padronização
 4. Tecnologia dos obstáculos. 5. Vida de prateleira.
 I. Título.

*À Deus, meu Senhor, que me conduziu e iluminou
e me proporcionou esta vitória.*

*Aos meus pais, Paulo e Lourdes e ao meu esposo Ricardo,
presentes de Deus em minha vida.*

Dedico este trabalho

AGRADECIMENTOS

À Universidade de São Paulo e ao Departamento de Engenharia de Alimentos da FZEA, dos quais eu me orgulho de ter feito parte.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de mestrado e auxílios concedidos para este projeto.

Ao Prof. Rodrigo Rodrigues Petrus, meu orientador, sem o qual o desenvolvimento deste projeto não teria sido possível e pela experiência acadêmica que ele me transmitiu.

À Tecnocana Tecnologia em Cana Ltda, representada pelo Sr. Ângelo, pela doação da matéria-prima.

À Thech Desinfecção pela doação de ácido peracético, representada pela Kenia Regina.

À Cargill pela doação do ácido cítrico.

À Profa. Dra. Eliana Setsuko Kamimura pela gentil disponibilização do Laboratório de Bioprocessos.

À Prof. Cintia Bernardo pelo auxílio nos cálculos para realização do balanço de massa.

À Profa. Dra. Marta Kushida, pelo auxílio na condução dos testes de *Salmonella*.

À Dra. Maria Teresa de Alvarenga Freire pelo compartilhamento de equipamentos.

Ao Prof. Dr. Júlio César Balieiro, pelas contribuições nas análises estatísticas.

À todos os professores da pós-graduação que me proporcionaram tantos conhecimentos e experiências, os quais poderei levar para minha vida.

Aos funcionários da pós-graduação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos que me atenderam sempre que necessário.

Às bolsistas de Iniciação Científica Ana Claudia e Isabele e aos estagiários Pâmela, Tainá, Guilherme, Jaqueline, Mariana, Silmara e André, alguns dos quais, mesmo sem pertencer a este projeto, foram solícitos em colaborar com o desenvolvimento do mesmo.

Aos técnicos de laboratório Graziane, Ednelí e Guilherme pela disposição e auxílio em muitas análises.

À Naty e ao Fabinho, amigos especiais com os quais compartilhei bons momentos.

Aos amigos e colegas da pós-graduação, com os quais eu convivi estes anos e que me ajudaram em muitas situações.

À minha família e amigos, sem os quais eu não seria tão feliz, pela presença, conselhos e apoio.

Principalmente, a Deus, autor da minha vida e que me dá motivos pra lutar.

A todos que de alguma forma participaram e contribuíram para a realização deste trabalho, o meu agradecimento.

Obrigada.

“Não há lugar para a sabedoria onde não há paciência.”

Santo Agostinho

RESUMO GERAL

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

O presente trabalho consistiu na padronização do *ratio*, definido como a razão entre o teor de sólidos solúveis (SS) e a acidez titulável (AT), no processamento em escala piloto e no estudo da vida de prateleira (VP) de caldo de cana estocado sob refrigeração. Utilizando-se um delineamento central composto rotacional, com onze formulações de caldo de cana, investigou-se o *ratio* da formulação que resultou em melhor aceitação sensorial, em uma ampla faixa de SS (13,1 a 25,9 °Brix) e de AT (0,02 a 0,09 % de ácido cítrico). Determinada a melhor formulação, processaram-se três lotes de caldo de cana padronizado (L1, L2 e L3). A estabilização da bebida foi baseada na seguinte combinação de métodos térmicos e não térmicos: acidificação, pasteurização (95 °C/ 30 s), envase asséptico em garrafas de polietileno tereftalato (PET) e estocagem refrigerada. Testes físico-químicos, microbiológicos e enzimáticos, incluindo-se a determinação da atividade da peroxidase (POD) e da polifenoloxidase (PPO) foram realizados na bebida *in natura* e recém-processada (tempo zero da VP). Para o estudo da VP do caldo de cana padronizado pasteurizado, as amostras, em todos os lotes processados, foram fracionadas e estocadas nas temperaturas de 4, 8, 12 e -18 °C (controle), na ausência de luz. A estimativa de VP do produto foi fundamentada em testes microbiológicos e sensoriais. A avaliação da estabilidade microbiológica baseou-se na enumeração de bactérias e fungos psicotróficos. Testes de escala hedônica de nove pontos para avaliação da aparência e do sabor foram empregados na análise da estabilidade sensorial. As médias da aceitação sensorial para impressão global das onze formulações não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) entre si, nas faixas de SS e AT estudadas. Verificou-se que

apenas o efeito da AT foi significativo ($p < 0,05$) na aceitação da bebida. A formulação escolhida para a padronização do caldo de cana foi aquela com AT equivalente a 0,09 % (pH próximo a 3,9) e 19,5 °Brix. Para o caldo de cana padronizado pasteurizado recém-processado, os valores de pH foram inferiores a 4,4 em L1, L2 e L3. As contagens de mesófilos não ultrapassaram 50 UFC/ mL, constatando-se a ausência de coliformes termotolerantes e *Salmonella* em todos os lotes processados. As médias das atividades de POD e PPO foram de 2,11 U/mL e 1,03 U/mL, respectivamente. As contagens de bactérias e fungos psicrotróficos não ultrapassaram 10^2 UFC/ mL. As médias dos tempos de VP estimadas para as frações dos lotes estocadas a 4, 8 e 12 °C foram equivalentes a 71, 74 e 23 dias, respectivamente. Concluiu-se que o caldo de cana foi bem aceito pela equipe de provadores, em uma ampla faixa de SS e AT. A combinação dos métodos empregados na estabilização da bebida foi eficiente na redução da atividade enzimática e da contagem microbiana. Além disso, as temperaturas de 4 e 8 °C mostraram-se efetivas na manutenção da estabilidade da bebida, satisfazendo a uma eventual demanda do mercado consumidor pela bebida processada

Palavras chave: garapa, delineamento fatorial, padronização, tecnologia dos obstáculos, vida de prateleira.

GENERAL ABSTRACT

GEREMIAS-ANDRADE, I. M. **Shelf-life estimate of standardized sugarcane juice stored under refrigeration**. 2014. 162 f. M.Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

The present study consisted in standardizing the total soluble solids (SS) and titratable acidity (TA) ratio, in small scale processing and in estimating the shelf-life (SL) of sugarcane juice stored under ideal, commercial and abusive temperature conditions. A central composite rotational design with eleven formulations of sugarcane juice was used to investigate the ratio of the formulation that resulted in the best sensory acceptance in a wide range of SS (13,1 a 25,9 °Brix) and TA (0,02 a 0,09% citric acid). Found the best formulation, three batches of standardized sugarcane juice were processed (L1, L2 and L3). The juice's stabilization was based on the following combination of thermal and non-thermal methods: acidification, pasteurization (95 °C/30 s), aseptic filling in polyethylene terephthalate (PET) bottles and refrigerated storage. Physico-chemical, microbiological and enzymatic tests, including the determination of the peroxidase (POD) and polyphenol oxidase (PPO) activities, were performed in the fresh and freshly processed (time zero of SL) juice. For the SL study, standardized pasteurized sugarcane juice samples were stored at temperatures of 4, 8, 12 and -18 °C (control), kept in the dark. The estimate of the product's SL was based on microbiological and sensory tests. The evaluation of the microbiological stability was based on the psychrotrophic bacteria and fungi counts. Nine-point hedonic scale tests for appearance and flavor evaluation were used in order to assess the sensory stability. The mean values of sensory acceptance, for overall impression, of the eleven formulations showed no statistical difference ($p > 0.05$) among them. It was found that only the effect of TA was significant ($p < 0.05$). The chosen formulation for sugarcane juice standardization was that one with TA 0.09 % (pH near 3.9) and

SS 19.5 °Brix. For the freshly processed standardized pasteurized juice, the pH was less than 4.4 in L1, L2 and L3. The mesophilic counts did not exceed 50 CFU/mL. The presence of coliforms at 45 °C and *Salmonella* was not confirmed. The average POD and PPO activities were 2.11 U/mL and 1.03 U/mL respectively. The psychrotrophic bacteria and fungi counts did not exceed 10^2 CFU/mL. The juice's SL stored at 4, 8 and 12 °C were 71, 74 and 21 days, respectively. It was concluded that the juice was well accepted in a wide range of SS and TA, and the combination of methods was effective in reducing the enzyme activity and microbial counts. Moreover, temperatures of 4 and 8 °C were proved to be effective in maintaining the sugarcane juice's quality for a period of time compatible with the consumer market demand.

Key words: sugarcane juice, factorial design, standardization, hurdle technology, shelf-life.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2: PADRONIZAÇÃO DO CALDO DE CANA PASTEURIZADO

Figura 2.1 - Fluxograma de processamento de caldo de cana puro/integral para o teste de formulações.65

CAPÍTULO 3: ESTABILIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE QUALIDADE DO CALDO DE CANA PADRONIZADO

Figura 3.1 - Fluxograma de produção experimental de caldo de cana padronizado pasteurizado.86

Figura 3.2 - Fluxograma de análise de atividades de polifenoloxidase (a) e peroxidase (b) em caldo de cana.89

CAPÍTULO 4: ANÁLISE DE VIDA DE PRATELEIRA DE CALDO DE CANA PADRONIZADO E PASTEURIZADO

Figura 4.1 - Variação das médias do pH em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 1..... 120

Figura 4.2 - Variação das médias do pH em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 2..... 120

Figura 4.3 - Variação das médias do pH em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 3..... 121

Figura 4.4 - Variação das médias da acidez em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 1..... 121

Figura 4.5 - Variação das médias da acidez em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 2..... 121

Figura 4.6 - Variação das médias da acidez em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 3..... 122

Figura 4.7 - Variação das médias do teor de sólidos solúveis em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 1. 122

Figura 4.8 – Variação das médias do teor de sólidos solúveis em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 2. 123

Figura 4.9 - Variação das médias do teor de sólidos solúveis em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 3. 123

Figura 4.10 - Evolução das médias de notas para aparência de caldo de cana padronizado pasteurizado, a diferentes temperaturas de estocagem do lote 1 (L1). 139

Figura 4.11 - Evolução das médias de notas para sabor de caldo de cana padronizado pasteurizado, a diferentes temperaturas de estocagem do lote 1 (L1). 140

Figura 4.12 - Evolução das médias de notas para aparência de caldo de cana padronizado pasteurizado, a diferentes temperaturas de estocagem do lote 2 (L2).	140
Figura 4.13 - Evolução das médias de notas para sabor de caldo de cana padronizado pasteurizado, a diferentes temperaturas de estocagem do lote 2 (L2).	141
Figura 4.14 - Evolução das médias de notas para aparência de caldo de cana padronizado pasteurizado, a diferentes temperaturas de estocagem do lote 3 (L3).	141
Figura 4.15 - Evolução das médias de notas para sabor de caldo de cana padronizado pasteurizado, a diferentes temperaturas de estocagem do lote 3 (L3).	142
Figura 4.16 - Gráfico de intenção de compra do lote 1 de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 4 °C. VP - vida de prateleira em dias.	142
Figura 4.17 - Gráfico de intenção de compra do lote 1 de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 8 °C. VP - vida de prateleira em dias.	143
Figura 4.18 - Gráfico de intenção de compra do lote 1 de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 12 °C. VP - vida de prateleira em dias.	143
Figura 4.19 - Gráfico de intenção de compra do lote 2 de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 4 °C. VP - vida de prateleira em dias.	144
Figura 4.20 - Gráfico de intenção de compra do lote 2 de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 8 °C. VP - vida de prateleira em dias.	144
Figura 4.21 - Gráfico de intenção de compra do lote 2 de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 12 °C. VP - vida de prateleira em dias.	145
Figura 4.22 - Gráfico de intenção de compra do lote 3 de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 4 °C. VP - vida de prateleira em dias.	145
Figura 4.23 - Gráfico de intenção de compra do lote 3 de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 8 °C. VP - vida de prateleira em dias.	146
Figura 4.24 - Gráfico de intenção de compra do lote 3 de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 12 °C. VP - vida de prateleira em dias.	146
Figura 4.25 - Média da vida de prateleira (VP) para caldo de cana pasteurizado estocado sob refrigeração na ausência de luz.	149

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 1.1 - Composição centesimal do caldo de cana <i>in natura</i>	28
Tabela 1.2 - Parâmetros físico-químicos de caldo de cana <i>in natura</i> recém-extraído da cultivar SP 3250 em planta de processamento piloto.....	37
Tabela 2.1 - Variáveis independentes teóricas codificadas e não codificadas.	68

CAPÍTULO 2: PADRONIZAÇÃO DO CALDO DE CANA PASTEURIZADO

Tabela 2.2 - Matriz do delineamento central composto rotacional para padronização de caldo de cana.	68
Tabela 2.3 - Rendimento e características físico-químicas do caldo de cana integral recém-pasteurizado.	72
Tabela 2.4 – Massa total (M), em gramas (g) de componente, para o preparo das formulações de caldo de cana.	73
Tabela 2.5 - Valores reais para os fatores estudados na padronização de caldo de cana e resposta para a aceitação sensorial.....	74
Tabela 2.6 - Resultados da análise do modelo de classificação hierárquica para o teste de formulações de caldo de cana padronizado pasteurizado.....	75
Tabela 2.7 - Análise de variância para os efeitos das fontes de variação do teste de formulações.	76
Tabela 2.8 - Comparação estatística dos diferentes níveis de AT.....	76

CAPÍTULO 3: ESTABILIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE QUALIDADE DO CALDO DE CANA PADRONIZADO

Tabela 3.1 - Rendimento e características físico-químicas do caldo de cana <i>in natura</i>	91
Tabela 3.2 - Massas (Kg) dos componentes adicionadas na etapa de padronização em relação à massa total de caldo de cana <i>in natura</i> extraída.	92
Tabela 3.3 - Contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos em caldo de cana <i>in natura</i> e padronizado antes da pasteurização (UFC/mL).	93
Tabela 3.4 - Resultados das análises microbiológicas referentes ao tempo zero (t_0) de produção de caldo de cana padronizado pasteurizado para os três lotes processados.	95
Tabela 3.5 - Resultados das análises físico-químicas referentes ao tempo zero (t_0) de produção de caldo de cana padronizado pasteurizado.	96
Tabela 3.6 - Atividade (U/mL) de polifenoloxidase e peroxidase em caldo de cana.	98
Tabela 3.7 – Médias de notas dos testes sensoriais referentes ao tempo zero (t_0) de produção de caldo de cana padronizado pasteurizado para os três lotes processados. ...	100

CAPÍTULO 4: ANÁLISE DE VIDA DE PRATELEIRA DE CALDO DE CANA PADRONIZADO E PASTEURIZADO

Tabela 4.1 - Resultados dos testes físico-químicos de caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 4 °C.	115
Tabela 4.2 - Resultados dos testes físico-químicos de caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 8 °C.	117
Tabela 4.3 - Resultados dos testes físico-químicos de caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 12 °C	119
Tabela 4.4 - Contagem de psicotróficos (UFC/mL) em caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 4 °C.	126
Tabela 4.5 - Contagem de psicotróficos (UFC/mL) em caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 8 °C.	128
Tabela 4.6 - Contagem de psicotróficos (UFC/mL) em caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 12 °C	130
Tabela 4.7 - Aceitação sensorial de caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 4°C.	132
Tabela 4.8 - Aceitação sensorial de caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 8°C.	134
Tabela 4.9 - Aceitação sensorial de caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 12°C.....	137
Tabela 4.10 - Estimativa de vida de prateleira (VP) para caldo de cana pasteurizado estocado sob refrigeração na ausência de luz.	148

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	7
GENERAL ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABELAS	13
1 INTRODUÇÃO GERAL	19
2. OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo geral	22
2.2 Objetivos específicos	22
CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
1 CANA-DE-AÇÚCAR	26
2 CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR	28
2.1 Mecanismos de deterioração de caldo de cana	31
2.1.1 Agentes químicos e bioquímicos	32
2.2.2 Agentes biológicos	34
3 PADRONIZAÇÃO DO <i>RATIO</i> DO CALDO DE CANA	36
4 TECNOLOGIAS DE PROCESSAMENTO PARA ESTABILIZAÇÃO DE CALDO DE CANA	39
4.1 Tecnologia dos obstáculos	40
4.1.1 Acidificação	42
4.1.2 Pasteurização	43
4.1.3 Envase asséptico	44
4.1.4 Estocagem refrigerada	45
5 VIDA DE PRATELEIRA	46
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
CAPÍTULO 2: PADRONIZAÇÃO DE CALDO DE CANA PASTEURIZADO	
RESUMO	61
ABSTRACT	62
1 INTRODUÇÃO	63

2 MATERIAL E MÉTODOS.....	65
2.1 Extração do caldo de cana.....	66
2.2 Processamento térmico do caldo de cana destinado à padronização	66
2.3 Preparo das formulações	67
2.4 Caracterização físico-química do caldo de cana integral pasteurizado	69
2.5 Análise microbiológica do caldo de cana integral pasteurizado.....	69
2.6 Padronização do caldo de cana pasteurizado.....	70
2.7 Análise sensorial.....	71
2.8 Análise estatística dos resultados	72
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
4 CONCLUSÕES	77
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

CAPÍTULO 3: ESTABILIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE QUALIDADE DO CALDO DE CANA PADRONIZADO

RESUMO	81
ABSTRACT	83
1 INTRODUÇÃO	84
2. MATERIAL E MÉTODOS	85
2.1 Caracterização físico-química do caldo de cana <i>in natura</i> , padronizado e padronizado pasteurizado recém-processado	87
2.2 Testes microbiológicos do caldo de cana <i>in natura</i> , padronizado e padronizado pasteurizado recém-processado.....	87
2.3 Análises enzimáticas do caldo de cana <i>in natura</i> e padronizado pasteurizado recém-processado	88
2.4 Análise sensorial do caldo recém-processado	90
3 PROCESSAMENTO DE CALDO DE CANA.....	90
3.1 Caracterização físico-química da matéria-prima	91
3.2 Caracterização microbiológica do caldo de cana <i>in natura</i> padronizado antes da pasteurização	93

3.3 Avaliação de qualidade da bebida recém-processada	94
3.3.1 Testes microbiológicos	95
3.3.2 Testes físico-químicos.....	96
3.4 Avaliação da atividade enzimática	97
3.5 Avaliação sensorial	100
4 CONCLUSÃO	101
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101
CAPÍTULO 4: ANÁLISE DE VIDA DE PRATELEIRA DE CALDO DE CANA PADRONIZADO E PASTEURIZADO	
RESUMO	106
ABSTRACT	107
1 INTRODUÇÃO	108
2 MATERIAL E MÉTODOS	110
2.1 Caracterização físico-química do caldo de cana padronizado pasteurizado estocado sob refrigeração	111
2.2 Testes microbiológicos e sensoriais para estimativa da vida de prateleira...	111
2.2.1 Avaliação microbiológica	112
2.2.2 Análise sensorial	112
2.3 Análise estatística dos resultados	113
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	113
3.1 Análises físico-químicas de caldo de cana padronizado pasteurizado estocado sob refrigeração.....	114
3.1.1 Análises físico-químicas das amostras estocadas 4 °C	114
3.1.2 Análises físico-químicas das amostras estocadas a 8 °C	116
3.1.3 Análises físico-químicas das amostras estocadas a 12 °C	118
3.2 Análises microbiológicas do caldo de cana processado.....	125
3.2.1 Análise microbiológica de caldo de cana estocado a 4 °C	125
3.2.2 Análise microbiológica de caldo de cana estocado a 8 °C	127
3.2.3 Análise microbiológica de caldo de cana estocado a 12 °C	129
3.3 Avaliação sensorial	131

3.3.1 Análise sensorial de caldo de cana estocado a 4 °C	131
3.3.2 Análise sensorial de caldo de cana estocado a 8 °C	133
3.3.3 Análise sensorial de caldo de cana estocado a 12 °C	136
3.4 Intenção de compra	142
3.5 Estimativa da vida de prateleira	148
4 CONCLUSÃO	150
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	150
CONCLUSÃO GERAL.....	154
SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS	155
APÊNDICE	156
APÊNDICE A – Modelo da ficha de avaliação sensorial utilizada no teste de formulações.	157
APÊNDICE B – Modelo da ficha de avaliação sensorial utilizada nos testes sensoriais de vida de prateleira e intenção de compra.	157
APÊNDICE C – Imagens do processamento.....	158
APÊNDICE D – Planta piloto de processamento de alimentos.....	158
APÊNDICE E – Máquina de enxágue de embalagens e amostras sob refrigeração	159
APÊNDICE F – Variação da cor ao longo da vida de prateleira (VP) das amostras de caldo de cana nas temperaturas de refrigeração.....	159

1 INTRODUÇÃO GERAL

A busca por praticidade, conveniência, segurança e qualidade na aquisição de produtos e serviços por parte dos consumidores tem sido crescente e notável. Produtos que eram consumidos apenas regionalmente passaram a ser distribuídos ao redor do país e os consumidores puderam ampliar suas opções de escolha, acelerando assim o intercâmbio de hábitos alimentares entre as diferentes regiões do país (OLIVEIRA et al., 2007).

Neste sentido, houve evidente aumento no consumo de refeições rápidas comercializadas por ambulantes, preparadas no próprio local de comercialização. O baixo custo e a conveniência, além da variedade de opções, são as vantagens relacionadas ao consumo de alimentos nas ruas (OLIVEIRA et al., 2007). A conveniência da aquisição de alimentos de vendedores informais é apreciada por muitos consumidores, incluindo os mais pobres de áreas urbanas, empregados que trabalham em regiões centrais e turistas (FAO, 2011).

Dados da Food and Agricultural Organization (FAO) de 2011 afirmam que o comércio ambulante de alimentos existe em todos os países do mundo, ainda que muitas vezes seja ilegal ou oprimido pelo Estado. Denominado “setor informal de alimentos” este apresenta-se como alternativa para as necessidades econômicas da população mais pobre.

Porém, há de se considerar aspectos positivos e aspectos negativos quanto ao comércio de alimentos em vias públicas. Os aspectos positivos estão associados à conveniência e à importância socioeconômica, cultural e nutricional que este tipo comércio representa. Quanto aos aspectos negativos, destaca-se às questões higiênico-sanitárias precárias associadas à produção destes alimentos (YASMEEN, 2001).

Existem diversos estudos que avaliaram as condições higiênico-sanitárias de alimentos comercializados em vias públicas nas diferentes regiões do Brasil, demonstrando que este tipo de produto pode representar um risco à saúde da população.

Soccol, Schwab e Katsoka (2009) avaliaram 100 amostras de caldo de cana *in natura* de 50 pontos da cidade de Curitiba/PR. Destas amostras, pelo menos

uma de cada ponto comercial apresentava o limite máximo de coliformes a 35 °C (totais), estabelecido pela Legislação.

Neste contexto, o mercado de caldo de cana, ou garapa, insere-se no comércio informal de alimentos, sendo uma bebida geralmente produzida em precárias condições higiênico-sanitárias (SILVA; FARIA, 2006).

O caldo de cana é resultante da moagem da matéria-prima, pertencente ao gênero *Saccharum*, em moendas elétricas ou manuais. A cana-de-açúcar é abundante e relativamente barata, largamente cultivada em países de clima tropical e sub-tropical como o Brasil, Índia e China (ASTOLFI-FILHO et al., 2011); constituída basicamente por caldo (composto por água, açúcares, cinzas e materiais nitrogenados) e bagaço (constituído principalmente por fibras). Além da produção do caldo de cana, existem muitas aplicações da cana-de-açúcar tais como a produção de açúcar, álcool combustível, cachaça, ração animal, produção de biopolímeros, dentre outras (PRADO; et al. 2010).

O caldo de cana apresenta-se como uma bebida de alta perecibilidade, sendo necessário o consumo imediato após a extração. Isto porque a composição da bebida é rica em nutrientes orgânicos e inorgânicos, além da alta atividade de água (0,98 - 0,99) e pH entre 5,0 e 5,5, condições estas que oferecem um ótimo substrato para o desenvolvimento de micro-organismos (GALLO; CANHOS, 1991).

Apesar da produção do caldo de cana consistir de poucas operações, o seu processo é considerado crítico, podendo levar a introdução de micro-organismos, ou a multiplicação daqueles já presentes na cana. A má qualidade da bebida está frequentemente atrelada à omissão das boas práticas agrícolas e de fabricação, nas etapas de despalhamento, descascamento, corte e moagem. Na maioria das situações, os processos citados são realizados com instrumentos inadequados para manipulação de alimentos, como foices e facas não higienizadas (ANDRADE; PORTO; SPOTO, 2008; PRADO et al., 2010).

Outro aspecto relativo ao caldo de cana refere-se à grande variação na sua composição, em função da variedade da matéria-prima, estágio de maturação, solo, condições climáticas e agrícolas (OLIVEIRA et al, 2007; PRADO et al. 2010). Dessa maneira, destaca-se a necessidade da padronização de suas características físico-químicas e sensoriais, para fins de industrialização.

No que tange às tecnologias de conservação que podem ser aplicadas ao caldo de cana, com o objetivo de estender sua vida útil, é extremamente relevante

a proteção contra agentes físicos (luz, calor), químicos (O_2), bioquímicos (enzimas) e biológicos (micro-organismos, insetos) responsáveis por alterações que comprometem as características químicas (composição), físicas (turbidez, separação de fases), sensoriais (odor, sabor, cor, textura) e nutricionais (proteínas, vitaminas) da bebida, influenciando a sua vida de prateleira (GRAUMLICH; MARCY; ADAMS, 1986).

Para estender a vida útil do caldo de cana é possível fazer uso da tecnologia dos obstáculos ou dos processos combinados, que é um conceito amplamente empregado no processamento de alimentos, em virtude de importantes vantagens que oferece, a exemplo da redução da intensidade de determinado tratamento, quando associado a outras tecnologias de conservação. Os obstáculos atuantes na estabilização do caldo de cana neste estudo incluíram a acidificação ($pH < 4,5$), o tratamento térmico, o envase asséptico da bebida padronizada pasteurizada e a estocagem refrigerada do produto final.

Outra questão a ser considerada refere-se à variação na composição do caldo *in natura*, em função da variedade, idade e sanidade da cana, solo, condições climáticas e práticas agrícolas; com destaque para o teor de sólidos solúveis (SANTOS et al., 2004), que pode oscilar consideravelmente, influenciando sobremaneira o gosto, o sabor e a aparência da bebida. Isto evidencia a necessidade de padronização do *ratio* do caldo, quando destinado à obtenção da bebida processada (OLIVEIRA et al, 2007; SANKHLA et al., 2012).

Posto isto, as vantagens proporcionadas pela industrialização do caldo de cana incluem a disponibilização da bebida, em qualquer época do ano, independente do período de safra; ao aumento da vida útil e extensão do consumo a locais distantes da região de plantio, com a diminuição do volume de matéria-prima transportado, resultando na diminuição de custos de transporte. Não obstante, a escolha correta da tecnologia de processamento assim como a aplicação racional do conceito dos obstáculos são fatores imperativos para se obter um produto seguro, com características nutricionais e sensoriais similares ao caldo *in natura*, recém extraído, e com vida de prateleira estendida.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo desta pesquisa consistiu na padronização, no processamento e na estimativa da vida de prateleira de caldo de cana padronizado pasteurizado, acondicionado assepticamente em garrafas plásticas e estocado sob refrigeração.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos do presente estudo foram:

1. Padronizar o *ratio* (razão entre o teor de sólidos solúveis e a acidez titulável) do caldo de cana, baseado em testes de aceitação sensorial; empregando-se para este fim um delineamento central composto rotacional.
2. Estabilizar a bebida padronizada por meio da combinação de métodos térmicos e não térmicos.
3. Investigar a extensão do impacto de diferentes temperaturas de estocagem, em condições ideais, comerciais e abusivas, na estabilidade microbiológica e sensorial da bebida.
4. Estimar o tempo de vida útil do caldo de cana padronizado, pasteurizado, envasado assepticamente em garrafas plásticas e estocado sob refrigeração.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, S. R. R.; PORTO, E.; SPOTO, M. H. F. Avaliação de qualidade do caldo extraído de toletes de cana-de-açúcar minimamente processada, armazenados sob diferentes temperaturas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, p. 51-55, 2008.

ASTOLFI-FILHO, Z. et al. Rheology and fluid dynamics properties of sugarcane juice. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdam, v. 53, p. 260–265, 2011.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. **Promessas e desafios do setor informal de alimentos de países em desenvolvimento**. 2011.

GALLO, C. R.; CANHOS, V. P. Contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica – Revisão. **STAB. Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 9, n. 4/5, p. 35-40, 1991.

GRAUMLICH, T. R.; MARCY, J. E.; ADAMS, J. P. Aseptically 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.

OLIVEIRA, A. C. G. et al. Percepção dos consumidores sobre o comércio de alimentos de rua e avaliação do teste de mercado do caldo de cana processado e embalado em seis municípios do estado de São Paulo, Brasil. **Revista Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 4, p. 397-403, 2007.

PRADO, S. P. T. et al. Avaliação do perfil microbiológico e microscópico do caldo de cana *in natura* comercializado por ambulantes. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, ed. 69, p. 55-61, 2010.

SANTOS, F. A. et al. Análise qualitativa das polpas congeladas de frutas produzidas pela SUFRUTS, MA. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 119, p. 14-22, 2004.

SANKHLA, S. et al. Preservation of sugarcane juice using hurdle technology. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 14, n. 1, p. 26–39, 2012.

SILVA, K. S.; FARIA, J. A. F. Avaliação da qualidade de caldo de cana envasado a quente e por sistema asséptico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 754-758, 2006.

SOCCOL, C. R.; SCHWAB, A.; KATSOKA, C. E. Avaliação microbiológica do caldo de cana (garapa) na cidade de Curitiba. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 8, n. 2, p. 116-125, 1990.

YASMEEN, G. Workers in the urban “informal” food sector: innovative organizing strategies. **Food Nutrition and Agriculture**, Rome, v. 29, p. 32-41, 2001.

CAPÍTULO 1:

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 CANA-DE-AÇÚCAR

A cana-de-açúcar, pertencente ao gênero *Saccharum*, é uma matéria-prima de grande versatilidade e viabilidade econômica e se apresenta como uma das gramíneas mais cultivadas nas regiões tropicais e subtropicais devido à grande contribuição socioeconômica que sua exploração representa, em razão de seu grande teor de sacarose. O êxito produtivo desta matéria-prima justifica-se pela fácil adaptação ao clima e solo brasileiros, sendo cultivada em grande parte do território nacional (DEMATTE, 2004; STUPIELLO, 1987).

A expansão do cultivo da cana deve-se principalmente à produção de açúcar e de álcool etílico (PRADO et al., 2010). Porém, seus subprodutos e resíduos podem ser utilizados para cogeração de energia elétrica, fabricação de ração animal e fertilizante para as lavouras, como o bagaço, a torta de filtro, o melaço e a vinhaça, entre outros (CONAB, 2011).

Estima-se que a produção brasileira de cana-de-açúcar em 2013/14 será de 652,02 milhões de toneladas, com aumento de 10,70% em relação à safra 2012/13, que foi de 588,92 milhões de toneladas, caracterizando essa cultura como uma das principais atividades econômicas do país, tanto em termos de balança comercial, como de geração de empregos. No Brasil, a região Centro-Sul se destaca como a região com maior volume de produção de cana-de-açúcar. O estado de São Paulo permanece como o maior produtor com 51,31% (4.515.360 hectares) da área plantada para a safra 2013/2014 (CONAB, 2013).

Segundo Silva (2004), algumas variedades produzidas no Brasil pertencem ao Centro de Tecnologia Canavieira – variedade CTC; ao Instituto Agrônomo de Campinas – variedade IAC; à Universidade Federal de São Carlos– variedade RB (República do Brasil) e à Copersucar – variedade SP.

A composição da cana-de-açúcar se dá basicamente por caldo (composto por água, açúcares, cinzas e materiais nitrogenados) e bagaço (constituído principalmente de fibras) (OLIVEIRA et al, 2007). Os carboidratos do caldo de cana são altamente digestíveis e a bebida é considerada energética dado o seu elevado teor de açúcar e baixo teor proteico (661 kcal de energia digestível e 637 kcal de

energia metabolizável por Kg). O conteúdo dos minerais Fe, K, Na e Mg, apesar de elevado, apresenta grande variabilidade (BERTOL, 1997).

A qualidade dessa matéria-prima está associada às suas características físico-químicas e microbiológicas. Tais características são influenciadas por fatores intrínsecos e extrínsecos e podem afetar significativamente a qualidade do produto final (RIPOLI; RIPOLI, 2004).

Segundo Ripoli e Ripoli (2004), os fatores intrínsecos relacionam-se aos teores de sacarose, açúcares redutores, fibras, compostos fenólicos, amido, ácido aconítico e minerais; influenciados pela variedade da cana, variações de clima, solo e tratamentos culturais. Os fatores extrínsecos estão associados à presença de materiais estranhos no colmo (terra, pedra, resíduos de cultura, plantas invasoras etc.) ou compostos produzidos por micro-organismos devido à sua ação sobre os açúcares do colmo.

Em relação aos aspectos microbiológicos responsáveis pela deterioração da cana-de-açúcar, Egan (1965) relata que a principal causa de deterioração da cana colhida é causada pela bactéria láctica *Leuconostoc mesenteroides*, que pode contaminar porções da cana que estejam danificadas ou cortadas. O tecido danificado é rapidamente colonizado por este micro-organismo, resultando na redução do teor de sacarose, redução da pureza do caldo e redução acentuada do pH e da acidez titulável dentro de dois dias após a infecção.

As espécies *L. mesenteroides* e *L. dextranicum* são responsáveis por uma importante degradação da cana-de-açúcar denominada de biodeterioração. Sob condições favoráveis, as referidas espécies de micro-organismos formam colônias nodulares após multiplicação, por meio da conversão de sacarose em polissacarídeos, tais como dextrana. A reação de conversão de sacarose a dextrana é catalisada pela enzima invertase (SALOMON, 2009). Um dos impactos negativos da produção da dextrana é o aumento da viscosidade do caldo utilizado na produção de açúcar (EGGLESTON, 2002).

Por ser uma matéria-prima de grande versatilidade, alguns produtos alimentícios derivados da cana, como o caldo de cana, o melaço e a rapadura são muito consumidos no Brasil por terem baixo custo e alto potencial calórico (PRADO et al., 2010).

2 CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR

O caldo de cana, conhecido popularmente como garapa, é uma bebida não alcoólica, nutritiva, energética e com propriedades medicinais, frequentemente consumida no Brasil, na Índia e em outros países, principalmente em períodos de clima quente, por ser refrescante e ter gosto doce (MISHRA; GAUTAM; SHARMA, 2011; SANKHLA et al., 2012; SOCCOL; SCHWAB; KATSOKA, 1990).

A bebida é caracterizada como um líquido viscoso e opaco, de coloração parda a verde escura, de baixa acidez (pH entre 5,0 e 5,5), composição variável em função da variedade, estágio de maturação, solo, condições climáticas e agrícolas; porém, com curta vida de prateleira devido à sua rápida deterioração microbiológica e bioquímica (OLIVEIRA et al, 2007; PRADO, et al. 2010; SANKHLA et al., 2012).

A Tabela 1.1 mostra as variações na composição centesimal do caldo de cana *in natura*, de acordo com diferentes fontes encontradas na literatura pesquisada.

Tabela 1.1 - Composição centesimal do caldo de cana *in natura*.

	IBGE (1999)	Oliveira (2007)	Rezzadori (2010)
Valor calórico (kcal/100 mL)	82,00	73,80	80,82
Umidade (%)	78,80	81,14	79,47
Carboidratos (%)	20,50	18,20	19,95
Açúcares totais (%)	-	17,68	-
Proteínas (%)	0,30	0,21	0,26
Cinzas (%)	0,30	0,41	0,33
Sólidos solúveis (°Brix)	-	22,74	19,35
Vitamina C (mg/100 mL)	2,00	2,98	5,64

- dado indisponível.

Os ácidos orgânicos presentes no caldo de cana, além do ácido cítrico, incluem os ácidos aconítico, málico, oxálico, glicólico, succínico, fumárico, entre outros (BLAKE; CLARKE; RICHARDS, 1987).

Outro aspecto que caracteriza a garapa é que ela é reconhecida como um sistema coloidal complexo, sendo a água o meio de dispersão. Vários nutrientes presentes na bebida estão em dispersão molecular e outros se apresentam

dissociados. É comum a presença de partículas do bagaço e outras impurezas no produto *in natura* para consumo (PRATI, 2004).

Com relação às propriedades medicinais do caldo de cana pode-se citar o fortalecimento de órgãos como estômago, rins, coração, olhos e cérebro. Além disso, a bebida tem efeito diurético e auxilia no ganho de peso (KARTHIKEYAN; SAMIPILLAI, 2010). Segundo Parvathy (1983), 100 mL de caldo de cana fornecem 40 kcal de energia, 10 mg de ferro e 6 mg de caroteno.

Em estudo de Stancanelli et al (2006), o autor comprovou que o caldo de cana apresenta efeito ergogênico atuando na reposição dos estoques de glicogênio muscular de jogadores de futebol após os treinos.

No Brasil, a bebida é apreciada por pessoas de todas as faixas etárias e classes sociais, sendo comercializada em vias públicas, parques, praças e feiras. Para a obtenção do caldo é necessária a sua extração em moendas elétricas ou manuais, sendo em seguida coado em peneira e servido com gelo. Para atenuar o gosto doce, a garapa pode ser servida com suco de frutas ácidas como maracujá, abacaxi e limão (PRATI, 2004).

Nos locais em que o consumo da garapa é praticado no Brasil, a comercialização desta bebida está associada ao mercado informal; o que dificulta o acesso a estatísticas acerca de seu consumo. O caldo comercializado em vias públicas apresenta algumas vantagens como preço inferior e conveniência; no entanto, reúne aspectos negativos no que tange às questões higiênico-sanitárias (YASMEEN, 2001).

Este fato revela que, se devidamente explorado, por meio de sua industrialização, isto é, se a bebida for comercializada processada, embalada, pronta para o consumo, facilitando sua utilização em redes de alimentação e aumentando sua vida útil, o caldo de cana pode alcançar um mercado com proporções ainda maiores (OLIVEIRA et al., 2007; REZZADORI, 2010).

Lopes, Cresto e Carraro (2006) afirmam que o caldo de cana oferece excelentes condições para o crescimento de micro-organismos. Devido ao alto teor de açúcar no caldo, após a extração da bebida, inicia-se o processo de fermentação o que o torna marrom devido à atividade da polifenoloxidase (QUDSIEH et al., 2002). Além disso, a fermentação microbiana do suco deteriora o seu sabor dentro de poucas horas após a extração, mesmo sob refrigeração

(YUSOF; SHIAN, OSMAN, 2000), tornando a bebida mais ácida (BHUPINDER et al., 1991).

A falta de capacitação por parte dos manipuladores no que tange à produção higiênica de alimentos e as diversas tarefas assumidas pelo mesmo indivíduo, tais como produção do caldo nas moendas e manipulação de dinheiro são considerados fatores de risco que levam à contaminação da bebida (OLIVEIRA et al., 2006a).

Estudos relacionados à qualidade higiênico-sanitária do caldo de cana, realizados em diversas regiões do país, demonstraram que este tipo de produto pode representar um severo risco à saúde da população (GRANDA et al, 2002; KITOKO et al., 2004, OLIVEIRA et al., 2006a; OLIVEIRA et al., 2006b; SOCCOL; SCHWAB.; KATSOKA,.1990).

Oliveira et al. (2006b) avaliaram 24 pontos de venda ambulante de caldo de cana na cidade de São Carlos/SP e constataram que 25% das amostras analisadas revelaram-se em condições sanitárias insatisfatórias para consumo humano por apresentarem níveis de coliformes termotolerantes a 45 °C acima do limite máximo permitido pela Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Entre as amostras de caldo de cana analisadas não foi detectada a presença de *Salmonella sp* nem de parasitas. Foram identificados coliformes termotolerantes a 45 °C em 31% das análises da microbiota da superfície das mãos dos vendedores participantes da pesquisa

Em trabalho semelhante, Prado et al. (2010) avaliam a qualidade microbiológica, microscópica e as condições higiênicas durante os procedimentos de manipulação do caldo de cana *in natura*, comercializado por ambulantes em Ribeirão Preto/SP. Na pesquisa, foram coletadas 90 amostras da bebida, adquiridas no comércio local. Do total de amostras avaliadas, 31,0% apresentaram coliformes a 45 °C acima de 2 log NMP/mL, porém, *Salmonella spp.* não foi isolada em nenhuma das amostras. Quanto aos parâmetros microscópicos, 32,2% estavam em desacordo com a legislação em vigor principalmente em virtude da presença de fragmentos de insetos e de insetos inteiros.

O desenvolvimento de métodos de preservação que possam controlar o crescimento microbiano em caldo de cana é um problema desafiador para assegurar a sua ampla distribuição e disponibilidade. Diante deste problema,

pesquisas têm sido conduzidas no sentido de preservar a qualidade desta bebida, seja ela na forma *in natura* ou processada (MISHRA; GAUTAM; SHARMA, 2011).

Sendo assim, o presente estudo vem contribuir no desenvolvimento de tecnologias de produção de caldo de cana processado, assegurando uma bebida de qualidade sanitária e vida de prateleira estendida.

2.1 Mecanismos de deterioração de caldo de cana

A qualidade e estabilidade de bebidas de origem vegetal são afetadas por reações oxidativas que dependem das condições do processo, presença de oxigênio no espaço livre da embalagem ou dissolvido no produto, presença de catalisadores, taxa de permeabilidade a gases e barreira à radiação da embalagem, tempo e temperatura de estocagem (GRAUMICH; MARCY; ADAMS, 1986; ALVES; GARCIA, 1993).

No caldo de cana *in natura*, a deterioração afeta principalmente o sabor e a aparência, momentos após a extração. A perda de qualidade da bebida é ocasionada pela fermentação, sendo decorrente de produtos do metabolismo microbiano (YUSOF; SHIAN; OSMAN, 2000). O processo de deterioração microbiológica do caldo pode ser acelerado se as condições de estocagem não forem adequadas, podendo ocorrer aumento da acidez titulável, do teor de gomas e redução do pH (SUZART, 2009).

Outra importante causa de deterioração observada no caldo de cana é o escurecimento observado na bebida logo após a sua extração. Tal fato é provocado por mecanismos de natureza enzimática, por oxidação de compostos fenólicos, culminando com a formação de melaninas, e de natureza não enzimática, via reação de Maillard, oxidação de ácido ascórbico, degradação térmica, alcalina e condensação de açúcares. No tocante às transformações enzimáticas, verifica-se a atuação da polifenoloxidase (PPO/EC 1.10.3.1), principal enzima atuante no caldo de cana (BUCHELLI; ROBINSON, 1994).

2.1.1 Agentes químicos e bioquímicos

A garapa, após a extração, escurece em razão da oxidação de seus constituintes (principalmente clorofila e compostos fenólicos), deflagrando a formação de pigmentos escuros. A coloração da bebida pode influenciar a aceitação da mesma no momento do consumo. Por isso, a bebida *in natura* deve ser consumida rapidamente (PRATI; MORETTI, 2010).

Os polifenóis, a exemplo de taninos e sacaretina, e os compostos aminos são passíveis de desenvolverem coloração. Os polifenóis podem reagir com o ferro e oxigênio, gerando compostos de coloração escura (BAYMA, 1974; DELGADO, 1975; HOING, 1973).

Quanto aos aminocompostos de coloração marrom, as melanoidinas, estas são o resultado da reação de Maillard que ocorre entre aminoácidos e açúcares redutores, naturalmente presentes no caldo de cana (BAYMA, 1974; DELGADO, 1975; HOING, 1973).

Em relação à produção do caldo de cana processado, quando a bebida é submetida ao tratamento térmico, o escurecimento do produto está associado a formação de caramelo e de produtos de decomposição de algumas hexoses (frutose e glucose), os quais contribuem para o aumento da cor na bebida (KOBBLITZ; MORETTI, 1999).

Há também a contribuição da atividade enzimática da polifenoloxidase e peroxidase resultando no escurecimento do caldo, que pode variar após a extração (OLIVEIRA et al., 2007).

Buchelli e Robinson (1994) demonstraram que, embora a peroxidase (POD) apresente atividade no caldo de cana e seja termorresistente, a polifenoloxidase (PPO) é a enzima responsável pelo escurecimento da bebida. Isso porque, quando a PPO reage com compostos fenólicos presentes no caldo, há a formação de pigmentos de coloração escura, denominadas de melaninas. Os autores afirmam ainda a referida reação é dependente de oxigênio e que se este fosse removido, a formação de cor escura no caldo seria inibida.

Portanto, a ação da PPO no caldo de cana ocasiona mudanças indesejáveis nas propriedades sensoriais do produto, com consequente diminuição

da vida útil e do valor de mercado. Porém, visto que a PPO é uma enzima relativamente termossensível (BUCHELLI; ROBINSON, 1994), a aplicação de um tratamento térmico mais brando torna-se viável.

Em estudo de Buchelli e Robinson (1994), os autores analisaram a contribuição enzimática no escurecimento da bebida, bem como a contribuição relativa de cada uma das enzimas (PPO e POD) associadas a tal escurecimento. Os resultados da pesquisa revelaram que o escurecimento do caldo foi menos intenso quando o mesmo foi extraído à temperatura de 100°C. A atividade da enzima PPO diminuiu significativamente com o aumento da temperatura de extração. Já a POD mostrou-se relativamente estável ao tratamento térmico, reduzindo sua atividade em 50%.

Patton e Duong (1992) associaram a cor do caldo de cana com a concentração de compostos fenólicos, o qual se torna mais escuro quando tais compostos reagem com a enzima PPO. A clorofila pode também contribuir com a cor esverdeada da bebida fresca, sendo encontrada literatura estudos que afirmam que a mudança na cor do caldo de cana foi em parte devido à diminuição no teor de clorofila (YUSSOF; SHIAN; OSMAN, 2000).

Segundo Simão (1985), as oxidações enzimáticas, geralmente, terminam em polimerização, cujos produtos finais são pigmentos escuros. Esse tipo de reação pode ser inibido pela inativação enzimática por meio de processamento térmico ou tratamento químico.

Mao, Xu e Que (2006), em estudo de caldo de cana *in natura* estocado a 10 °C e extraído após branqueamento dos feixes de cana provocaram uma redução no escurecimento da bebida devido a redução da atividade da PPO. No caldo adicionado de 0,1% ácido ascórbico, houve redução da coloração esverdeada/ ou escurecimento da bebida também associada à redução da atividade da PPO.

2.2.2 Agentes biológicos

Organismos patogênicos podem ter acesso a frutas e vegetais na presença de superfícies danificadas, tais como perfurações, lesões, cortes e divisões que ocorrem durante o crescimento ou colheita. A contaminação de matérias-primas e equipamentos, condições de processamento inadequadas, manuseio impróprio e más condições de higiene em geral contribuem substancialmente para a entrada de bactérias patogênicas nos sucos (MAHALE; KHADE; VAIDYA, 2008).

Neste cenário, como comentado anteriormente, o caldo de cana é uma bebida geralmente comercializada por ambulantes e sua produção é associada a precárias condições higiênico-sanitárias (OLIVEIRA et al, 2007). Além disso, as características da bebida favorecem o desenvolvimento de fungos e bactérias deteriorantes, dada a presença de substratos e a alta atividade de água da garapa. A presença de oxigênio gera um potencial de oxirredução positivo ($E_h > 0$), proporcionando o desenvolvimento de bolores na superfície da bebida (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

A contaminação presente na cana-de-açúcar, que pode ser transmitida para a garapa no momento da extração, deve-se a micro-organismos presentes no solo, entre os quais se destacam os fungos filamentosos e leveduriformes, bactérias lácticas e esporuladas, os quais levam à perda de sacarose com consequente formação de ácido orgânico e de etanol (KRISHNAKUMAR; DEVADAS, 2006; OLIVEIRA et al, 2007).

Para alcançar a estabilidade e a segurança do caldo de cana é necessário investir em técnicas que inibam o desenvolvimento dos micro-organismos contaminantes, ou que sejam capazes de destruí-los. Dessa maneira, evita-se a deterioração e a veiculação de doenças de origem alimentar pela bebida, além de estender consideravelmente sua vida útil (KUNITAKE, 2012).

Os grupos de micro-organismos responsáveis pela deterioração da garapa incluem (OLIVEIRA, 2007; PRATI, 2004; SILVA et al., 2007; YUSOF; SHIAN; OSMAN, 2000):

- Bactérias esporogênicas, que são anaeróbias facultativas, mesófilas, produtoras de ácidos butírico e acético, CO₂ e H₂.
- Bactérias não esporogênicas, como as bactérias lácticas e acéticas que são mesófilas e microaerófilas.
- Bolores e leveduras.

No caldo de cana mantido à temperatura ambiente (25 – 30 °C), há desenvolvimento principalmente de bactérias mesófilas, enquanto que na condição refrigerada, há crescimento de bactérias psicotróficas (MORITA, 1975).

Frazier e Westthoff (1995) citam as principais bactérias que deterioram o caldo de cana, a saber: *Leuconostoc*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*. Entre as leveduras e bolores, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Monilla*, *Penicillium*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Pichia*, *Torulopsis* são responsáveis pela deterioração. Conforme discutido no item 1 deste capítulo, a espécie *Leuconostoc sp*, (*L. mesenteroides* e *L. dextranicum*) é capaz de converter a sacarose em polissacarídeos, tais como dextrana (SALOMON, 2009), ao quais são responsáveis pelo aumento da viscosidade do caldo de cana (EGGLESTON, 2002).

No entanto, o crescimento da maioria dos micro-organismos pode ser evitada ou retardada ajustando-se a carga microbiana inicial do alimento, reduzindo a temperatura de estocagem e a atividade de água, diminuindo o pH, utilizando agentes conservadores e utilizando embalagens adequadas (SINGH; ANDERSON, 2004).

Neste sentido, existem estudos que associam diversas técnicas para a produção de caldo de cana pronto para consumo, visando a criação de obstáculos ao desenvolvimento microbiano, a fim de se obter um produto de qualidade, seguro para o consumo e de vida útil estendida.

Vale destacar que a Legislação Brasileira não estabelece limites para contagem microbiana de micro-organismo mesófilos e psicotróficos em caldo de cana. Contudo, a Resolução RDC 12 de 2001, da ANVISA, fixa padrões microbiológicos para caldo de cana pasteurizado e refrigerado. Segundo esta Resolução, a contagem de coliformes a 45 °C não deve ultrapassar 10 NMP/mL. Células de *Salmonella* devem estar ausentes em 25 mL de produto.

Em estudo de Rezzadori (2010), a autora avaliou os efeitos dos parâmetros operacionais temperatura, pressão transmembrana e velocidade tangencial no fluxo permeado final durante a microfiltração de caldo de cana-de-açúcar adicionado de polpa de maracujá. Os ensaios foram realizados em uma unidade piloto de filtração utilizando-se uma membrana de fibra oca (poliamida) com diâmetro médio de poros de $0,4\ \mu\text{m}$ e área de filtração de $0,723\ \text{m}^2$. Os fluxos de permeado final para os ensaios realizados variaram de 7,05 a $17,84\ \text{L/h/m}^2$. A caracterização microbiológica da bebida mostrou uma expressiva redução na contagem microbiana, indicando que esta ficou dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira.

Mao, Xu e Que (2007), relataram que a acidificação por ácido ascórbico e o branqueamento da matéria-prima em caldo de cana fresco refrigerado a $10\ ^\circ\text{C}$ foram eficientes na redução do crescimento microbiano durante o tempo de estocagem, obtendo uma vida útil para o produto de 5 dias.

Em estudo de Yasmin, Massod e Abid, caldo de cana foi acidificado a pH 4,3 com ácido cítrico e a bebida foi pasteurizada a $90\ ^\circ\text{C}/5\ \text{min}$. O caldo foi envasado quente em garrafas de vidro esterilizadas e armazenado à temperatura ambiente por 120 dias. Durante este período, os autores citam que não houve crescimento de micro-organismos aeróbios totais nem de bolores e leveduras.

3 PADRONIZAÇÃO DO *RATIO* DO CALDO DE CANA

A demanda do mercado consumidor por alimentos mais saudáveis, com características mais próximas à matéria-prima, tem aumentado continuamente; o que contribuiu para o crescente consumo de suco de frutas observado nos últimos anos (SANCHO et al., 2007). Dados da consultoria Nielsen mostram que, só no primeiro semestre de 2013, foram vendidos no Brasil 367,6 milhões de litros de suco, 9,8% a mais em relação ao mesmo período de 2012 (EMPREENDEDORES..., 2013).

No entanto, o desafio encontrado pela indústria processadora de sucos é a padronização da bebida. De maneira geral, os produtos de origem vegetal tem sua

composição muito afetada pelas condições climáticas, solo, cultivar e condições de manejo pré e pós-colheita (AKED, 2000).

Destaca-se que a falta de uniformidade apresentada pela matéria-prima na produção de sucos é umas das características sensoriais mais marcantes constituindo-se em um dos maiores entraves à padronização do seu processo de fabricação e à qualidade do produto final (NASCIMENTO et al., 2003).

O caldo de cana, considerado como “suco da cana”, de acordo com Lima (1998), tem sua composição variável em função da variedade, idade e sanidade da cana, solo, condições climáticas e práticas agrícolas; com destaque para o teor de sólidos solúveis (SANTOS et al., 2004), que pode variar consideravelmente. Esta variação influencia sobremaneira o gosto, o sabor e a aparência da bebida. Isto evidencia a necessidade de padronização do *ratio* do caldo, quando destinado à obtenção da bebida processada (OLIVEIRA et al, 2007; SANKHLA et al.,2012).

Na indústria de sucos, o *ratio* é um parâmetro que fornece o grau de maturação da fruta e, sendo de fácil obtenção, é amplamente utilizado como indicador de qualidade (GOMES, 2006). A determinação do *ratio* também destaca-se como um método prático para avaliar o sabor e a palatabilidade de uma bebida. Do ponto de vista industrial, uma acidez elevada diminui a necessidade de adição de acidulantes propiciando maior segurança e qualidade sensorial à bebida (AKED, 2000).

A Tabela 1.2 evidencia a variabilidade dos parâmetros físico-químicos do caldo de cana *in natura* encontrados no estudo de Kunitake (2012), extraído de um mesmo cultivar de cana-de-açúcar (SP 3250), fornecido pelo mesmo produtor, ao longo da safra 2010/ 2011.

Tabela 1.2 - Parâmetros físico-químicos de caldo de cana *in natura* recém-extraído da cultivar SP 3250 em planta de processamento piloto.

Rendimento ¹ (% m/m)	46 - 61
pH	5,0 – 5,6
Teor de sólidos solúveis (°Brix)	15,2 – 23,6
Acidez titulável (% ácido cítrico)	0,04 – 0,07
<i>Ratio</i> ²	337 – 380

¹ em relação à massa da cana raspada. ² razão entre o teor de sólidos solúveis e acidez titulável.
Fonte: Kunitake (2012).

Na etapa de formulação, o suco é padronizado e uniformizado, a fim de proporcionar um produto final com as características agradáveis. Nesta etapa, pode ocorrer a mistura dos ingredientes, ajuste do pH (com adição de acidulantes como o ácido cítrico) e/ ou conservadores, a exemplo do benzoato e metabissulfito de sódio (SANCHO et al., 2007).

Dantas et al. (2010) afirmam que a acidez titulável, o teor de sólidos solúveis, de açúcares redutores e totais, de vitamina C e pH são importantes parâmetros para a padronização de produtos e análise de alterações ocorridas durante o processamento e a estocagem de produtos de origem vegetal.

Vale ressaltar que na literatura pesquisada, foram encontradas referências apenas para o Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) para refresco e refrigerante de caldo de cana (BRASIL, 2013).

Trabalhos encontrados na literatura sugerem formulações para a produção de caldo de cana, a partir da padronização da acidez titulável (AT), do pH e do teor de sólidos solúveis (SS), por adição de ácidos orgânicos, de polpa de frutas ácidas ou mesmo pela concentração da bebida (KUNITAKE, 2012; LO et al., 2007; PRATI, 2004; YASMIN; MASSOD; ABID, 2010).

A aplicação de metodologias estatísticas, a exemplo da metodologia de superfície de resposta, tem norteado os pesquisadores na elaboração de formulações de bebidas a base de frutas (RODRIGUES; IEMMA, 2009).

A Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) é uma combinação de técnicas matemáticas e estatísticas úteis para análise de problemas onde várias variáveis independentes influenciam uma variável dependente ou resposta e o objetivo é otimizar a resposta. A resposta, ou variável dependente, é bem modelada por uma função linear das variáveis independentes, e em seguida é aproximada de uma função de modelo de primeira ordem; porém, se o modelo apresentar curvatura, ele será considerado de segunda ordem. O diagrama obtido nesta modelagem indica uma direção do aumento da resposta, auxiliando o pesquisador a encontrar a combinação de variáveis independentes que gerem o valor máximo ou mínimo desta resposta (MONTGOMERY, 1984).

Na elaboração de bebidas à base de frutas, as variáveis independentes podem ser pH, AT, SS, concentração de polpa de fruta, entre outros. Dessa forma, diferentes combinações de formulação podem ser obtidas. A resposta, em muitos estudos, é a aceitação sensorial de atributos de cada formulação avaliada

(BRANCO et al., 2007; BOTARO; BORSATO; BATISTUTI, 2011; DA SILVA PEREIRA et al., 2009).

Em estudo de Silva e Faria (2006), visando à estabilização de caldo de cana esterilizado envasado à quente e por sistema asséptico, a MSR foi aplicada a fim de se verificar a melhor combinação entre o pH e o teor de sólidos solúveis (SS). A variável dependente foi a média de notas atribuídas no teste de escala hedônica. A faixa de pH estudada foi de 3,6 a 5,3. O ajuste do pH foi feito com ácido cítrico. A variação de SS foi de 12,2 a 17,8. Por meio da MSR, observou-se que houve uma tendência para melhor aceitação sensorial quando o pH foi maior que 4,0 e SS maior que 15 °Brix.

Prassad e Nath (2002) utilizaram a MSR no desenvolvimento de uma bebida de limão à base de caldo de cana. Para o estudo, caldo de cana clarificado foi utilizado como substituto do açúcar no preparo da bebida. As proporções específicas de caldo de cana que foram utilizados para o preparo da bebida empregou o delineamento central composto rotacional com 13 ensaios experimentais. A bebida foi envasada à 85 °C em garrafas de vidro de 250 mL e pasteurizada à 95 °C por 30 min; verificando-se por meio da referida metodologia que o caldo de cana pode substituir o açúcar até um nível de 100% para a bebida de limão.

4 TECNOLOGIAS DE PROCESSAMENTO PARA ESTABILIZAÇÃO DE CALDO DE CANA

A demanda atual por parte dos consumidores por alimentos mais naturais, isentos de conservadores químicos e que mantenham os benefícios nutricionais dos produtos *in natura* tem gerado uma forte necessidade de aprimoramento das tecnologias de conservação de alimentos.

Neste sentido, a combinação dos métodos de conservação tem sido frequentemente proposta para minimizar os efeitos sensoriais adversos dos tratamentos aplicados de maneira individual, permitindo a obtenção de um alimento estável e seguro para consumo, além de manter propriedades nutricionais

próximas ao dos produtos *in natura* (BRUL et al.; 2003; SENAI; SEBRAE, 1999), baseando-se na tecnologia dos obstáculos.

Neste estudo, os obstáculos empregados na estabilização do caldo de cana padronizado foram a acidificação, a pasteurização, o envase asséptico e a estocagem refrigerada do produto final.

4.1 Tecnologia dos obstáculos

A combinação de vários fatores que objetivam a estabilidade microbiana e segurança dos alimentos é conhecida como efeito obstáculo. A tecnologia dos obstáculos foi derivada do efeito obstáculo e permite a melhoria da segurança e qualidade dos alimentos nos quais este princípio é aplicado (SANKHLA et al., 2012).

Tal tecnologia baseia-se num conjunto de técnicas aplicadas simultaneamente, as quais objetivam a estabilização física, bioquímica e microbiológica do produto em escala industrial. Esta combinação de técnicas formam verdadeiros obstáculos, fazendo com que cada um atue sobre um determinado fator de deterioração e de perda de qualidade durante a estocagem (LEISTNER, 1999). A tecnologia dos obstáculos surgiu em resposta a vários desenvolvimentos e, portanto, fornece uma estrutura de combinação de técnicas de conservação mais brandas para alcançar um maior nível de segurança e estabilidade do produto (SANKHLA et al., 2012).

Leistner e Gorris (1995) afirmam que os obstáculos normalmente considerados na conservação dos alimentos são: temperatura (alta ou baixa), atividade de água (Aa), pH, potencial de oxirredução, conservadores químicos, atmosfera modificada e microrganismos competitivos (bactérias lácticas e produtos do seu metabolismo), podendo também ser incluída a adequação da embalagem. Dentre eles, o pH figura como obstáculo de grande relevância estabelecendo limites de segurança para os alimentos.

Diferentes tecnologias convencionais podem ser utilizadas como obstáculos na estabilização de alimentos e bebidas. Como tecnologias convencionais figuram o tratamento térmico, estocagem refrigerada, acidificação, congelamento, envase asséptico e adição de conservadores químicos (BRUL et al.; 2003; LEISTNER; GORRIS, 1995).

No entanto, atualmente, cerca de 50 obstáculos adicionais têm sido utilizados na conservação de alimentos. Estes obstáculos incluem: altas pressões hidrostáticas, nano-termo-sonicação, inativação fotodinâmica, sistemas de embalagem ativa, revestimentos comestíveis, produtos da reação Maillard e bacteriocinas (OHLSSON; BENGTSSON, 2002).

Na literatura são encontrados muitos estudos que objetivam o desenvolvimento de tecnologias a fim preservar as características do caldo de cana fresco por um maior período de tempo, sendo possível a comercialização da bebida em condições higiênico-sanitárias adequadas, oferecendo ao consumidor um produto seguro de alta qualidade (SILVA, 2004).

As tecnologias de processamento compatíveis com o caldo de cana processado incluem métodos térmicos convencionais, como a pasteurização, e métodos não convencionais ou emergentes, a exemplo da irradiação (raios gama), separação por membranas, campo magnético pulsante de alta intensidade, micro-ondas, entre outras; embora a aplicação dessas últimas tenha se limitado ao âmbito da pesquisa (KUNITAKE, 2012; OLIVEIRA et al., 2007; REZZADORI, 2007; SANKHLA et al., 2012; UEKI, 2013). É importante ressaltar que a combinação de métodos térmicos e não térmicos, associados a outros obstáculos resulta, frequentemente, em um produto de qualidade superior.

Chauhan et al.(2002) realizaram estudos visando à preservação do caldo de cana pasteurizado a 70 °C durante 10 minutos, após a adição de ácido cítrico (400 mg/ L de caldo), ácido ascórbico (400 mg/ L) e metabisulfito de potássio (150 mg/ L), como agente conservador, o que conferiu ao produto acondicionado em garrafas previamente esterilizadas, estabilidade de 90 dias sob refrigeração.

OLIVEIRA et al. (2007) avaliaram o grau de aceitação do mercado consumidor e a estabilidade do caldo de cana puro e adicionado de suco de frutas, submetido ao processamento térmico (70 °C/ 25 min) e/ou à radiação gama (2,5 kGy), armazenado em garrafas de polietileno de alta densidade sob refrigeração ($5 \pm 1^\circ\text{C}$). A qualidade do caldo de cana foi avaliada pelos parâmetros microbiológicos

(contagem de aeróbios psicrotróficos, bactérias lácticas e fungos filamentosos e leveduriformes), físico químicos (pH, cor, acidez titulável, teor de sólidos solúveis, *ratio* e atividade de polifenoloxidase) e sensoriais (teste hedônico). As bebidas elaboradas pela mistura de caldo de cana e suco de limão submetidas à irradiação, pasteurização combinada com radiação e pasteurização mantiveram qualidade satisfatória durante os períodos de 28, 35 e 42 dias, respectivamente, após o processamento. O tratamento térmico isolado foi considerado a melhor forma de conservação da bebida.

4.1.1 Acidificação

A acidificação de produtos alimentícios é uma prática industrial usual, pois promove uma maior estabilidade microbiológica dos produtos, estendendo a vida útil dos mesmos. Alguns ácidos orgânicos comumente utilizados na indústria de alimentos são o ácido ascórbico, ácido málico, ácido cítrico, entre outros (EISSA, 2010); sendo o ácido cítrico, o mais utilizado (BELITZ; GROSCH; SCHIERBELE, 2009).

O efeito da acidificação dos alimentos é a redução do pH e, conseqüentemente, a restrição do desenvolvimento microbiano e a inibição ou inativação enzimática, permitindo o emprego de temperaturas mais brandas durante um eventual tratamento térmico (BELITZ; GROSCH; SCHIERBELE, 2009). A acidificação de caldo de cana, com suco de fruta ácida ou adição de ácido orgânico tem sido praticada em diversas pesquisas publicadas.

Em estudo realizado por BHUPINDER et al (1991), o tratamento térmico a 80 °C/ 10 s seguido da adição de 140 mg/ L de metabissulfito de potássio, 3% de suco de limão e 1% de extrato de gengibre conferiu uma estabilidade de 24 semanas ao produto engarrafado.

Os resultados obtidos por Khare et al. (2012) revelaram que uma bebida de boa qualidade, com vida útil de 60 dias sob refrigeração pode ser preparada para cada 100 mL caldo de cana pasteurizado a 75° C/ 10 min após a adição de 225

ppm de metabissulfito; 3,0 mL de limão como intensificador de sabor e fonte de ácido cítrico (antioxidante); 1,0 g de sal como composto aromatizante, 0,6 mL de gengibre como intensificador de sabor. Os autores relataram que o limão foi capaz de baixar o pH da bebida à 3,01, promovendo a conservação do produto.

4.1.2 Pasteurização

A utilização do tratamento térmico na conservação de alimentos é uma prática amplamente disseminada. Porém, o seu delineamento deve considerar a termossensibilidade do produto, a sua suscetibilidade à deterioração, as condições de estocagem e o tempo de vida útil pretendido. Dessa forma, um tratamento térmico seguro para o alimento deve ser selecionado de acordo com a composição e características físico- químicas; sobretudo o pH. O binômio tempo x temperatura utilizado no processo deve ser capaz de destruir os micro-organismos patogênicos e deteriorantes que podem se desenvolver nas condições de estocagem do produto (AZEREDO, 2004; BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998).

Diante do exposto, a pasteurização é um processamento térmico que atende aos requisitos de destruição de patógenos e micro-organismos deteriorantes termossensíveis, bem como inativação enzimática, sendo utilizada quando tratamentos mais rigorosos podem influenciar negativamente as propriedades sensoriais e nutritivas do alimento. Também é aplicada em produtos alimentícios que serão posteriormente estocados sob refrigeração, adicionado de aditivos ou envasados assepticamente (FONSECA, 1984).

Kunitake (2012) avaliou a estabilidade de caldo de cana adicionado de polpa de maracujá pasteurizado a 85, 90 e 95 °C/30 s. As três temperaturas empregadas foram efetivas na inativação da enzima polifenoloxidase (PPO). Contudo, apenas a pasteurização a 95 °C proporcionou a inativação da peroxidase (POD). As contagens de bactérias e fungos foram inferiores a 2 log UFC/mL ao longo de 90 dias de estocagem. O referido estudo demonstrou que o aumento da temperatura de pasteurização afetou positivamente a estabilidade da bebida.

4.1.3 Envase asséptico

Considerando a tendência de redução ou eliminação do uso de conservadores químicos em alimentos, o sistema asséptico tem se mostrado como uma importante tecnologia para melhorar a qualidade e proporcionar uma vida de prateleira estendida, prescindindo da adição de conservadores ao produto (EMBANNEWS, 1997; KLAUS, 2002).

Uma das tecnologias de embalagem para alimentos fluidos de maior destaque nas últimas décadas, em escala global, é o sistema de envase asséptico, que consiste no acondicionamento do alimento processado em uma embalagem previamente esterilizada, sob condições assépticas (BUCHNER, 1993; HOLDSWORTH, 1992; LÓPEZ-GÓMES, ROS-CHUMILLAS, BELISARIO-SÁNCHEZ, 2010). O grau de eficiência do envase depende da qualidade do ar; que deve ser rigorosamente controlado, seguido do fechamento asséptico e hermético (LÓPEZ-GÓMES, 2013).

Segundo Bucheli e Robinson (1994), para o acondicionamento de caldo de cana, a embalagem e o sistema de fechamento, devem proteger a bebida da exposição ao oxigênio e à luz, apresentando baixa taxa de permeabilidade a estes agentes, uma vez que são promotores dos mecanismos de escurecimento enzimático e da oxidação de pigmentos e vitaminas. Deve-se considerar também o tempo de vida de prateleira pretendido para o produto, as condições de distribuição, de estocagem e de comercialização assim como o impacto no custo final da bebida.

A utilização de garrafas plásticas para o acondicionamento de produtos líquidos tem crescido, pois apresentam algumas vantagens quando comparadas a outros tipos de materiais, como peso reduzido, facilidade de descarte, menor fragilidade à quebra, resistência à corrosão, fácil enchimento, facilidade de transporte, comodidade de manuseio dentre outras (EVANGELISTA, 1994).

A utilização de garrafas de polietileno tereftalato (PET) no acondicionamento asséptico do caldo de cana, aliado a outros obstáculos já discutidos, apresenta-se como um modelo viável na estabilização da bebida, obtendo-se bons resultados de qualidade do produto e vida útil estendida.

Silva e Faria (2006) estudaram o processamento de caldo de cana em escala piloto, envasado em garrafas de vidro, a quente e assepticamente (em sala limpa). Avaliou-se a qualidade do caldo produzido pelos dois processos, estocado a temperatura ambiente. Em relação aos aspectos sensoriais, microbiológicos e físico-químicos, as análises pós-processo mostraram que o caldo de cana, quando processado assepticamente, apresentou-se estável durante 30 dias, enquanto que o caldo de cana processado e envasado a quente atingiu uma vida útil de 60 dias.

4.1.4 Estocagem refrigerada

O fator que mais afeta a estabilidade de alimentos é a temperatura de estocagem. Esta apresenta um efeito exponencial sobre as transformações ocorridas no alimento, bem como no aumento da permeabilidade da embalagem (FARIA, 1993). Para cada tipo de produto, existe a faixa de temperatura adequada para conservação e prolongamento da vida de prateleira do mesmo (WILEY, 1997).

A temperatura de estocagem de um alimento tem um papel fundamental no desenvolvimento microbiano. Os micro-organismos podem crescer rapidamente, crescer lentamente, cessar o crescimento ou até mesmo serem destruídos ou injuriados (SINGH; ANDERSON; 2004).

A relação existente entre a temperatura e a velocidade das transformações ocorridas em um alimento pode ser expressa pelo valor Q_{10} , definido como a razão entre a velocidade da reação à temperatura $T+10\text{ }^{\circ}\text{C}$ e a velocidade da reação à temperatura T . O valor Q_{10} representa o aumento da velocidade das reações quando a temperatura do sistema aumenta $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ (FARIA, 1993).

Singh et al. (2012) relataram que o uso de baixa temperatura na estocagem de caldo de cana adicionado de probiótico foi a maneira mais eficaz na manutenção da qualidade da bebida.

Yusof, Shian e Osman (2000) avaliaram a qualidade de caldo de cana extraído de cana-de-açúcar armazenada, bem como alterações na qualidade do caldo fresco estocado a diferentes temperaturas. Os feixes de cana foram

armazenados a 10 ± 1 °C, 85 – 88 % de umidade relativa (UR) e 27 ± 1 °C, 55 – 85 % UR, enquanto que o caldo fresco foi estocado a 5 ± 1 °C, 61 – 84 % UR e 27 ± 1 °C, 55 – 85 % UR. Os resultados mostraram que a cana estocada a baixa temperatura (10 °C) foi capaz de produzir uma bebida com vida útil de 9 dias, enquanto que a matéria-prima estocada a 27 °C produziu um caldo com vida útil de 4 dias. O caldo de cana fresco estocado a 5 °C deteriorou-se após 4 dias, enquanto que aquele estocado a 27 °C, deteriorou-se em apenas 1 dia.

Andrade, Porto e Spoto avaliaram a qualidade físico-química e microbiológica do caldo extraído de toletes de cana-de-açúcar minimamente processada, armazenados sob três temperaturas: ambiente (22 a 25 °C), utilizada como controle, refrigeração (4 °C) e congelamento (–20 °C). O caldo extraído dos toletes armazenados sob congelamento apresentou boa qualidade físico-química e microbiológica durante todo o período avaliado. Por outro lado, o caldo extraído dos toletes armazenados sob refrigeração e o controle apresentaram alterações microbiológicas pronunciadas, limitando o período de conservação dos toletes até 12 e 6 dias, respectivamente, o que permitiu aos autores concluir que o tratamento mais eficiente para a preservação da qualidade do caldo foi o congelamento da cana-de-açúcar minimamente processada.

5 VIDA DE PRATELEIRA

A vida de prateleira de um alimento pode ser definida como o período de tempo em que o produto permanece aceitável, sob perspectivas nutricionais, sensoriais ou/ e de segurança microbiológica (FU; LABUZA, 1993).

Sendo assim, o objetivo de toda a determinação de vida útil é estimar o momento em que o consumo de um alimento não é mais aconselhado, isto é, o produto se torna impróprio para consumo ou já não tem as características sensoriais que lhe são peculiares (AMERICAN SOCIETY OF TESTING MATERIAL, 2005).

Singh e Anderson (2004) relatam que a maioria dos alimentos está sujeita a alterações de natureza físico-química, química, bioquímica, microbiológica e

sensorial ao longo da sua vida útil. Em bebidas à base de frutas, estes três tipos de alterações podem estar associadas ao tratamento térmico empregado, à composição química da matéria-prima, à temperatura de estocagem, às características da embalagem, entre outros fatores. As alterações sensoriais geralmente estão relacionadas à mudança ou degradação na cor, no aroma, no sabor e na viscosidade da bebida, enquanto as principais alterações físico-químicas relacionam-se às reações oxidativas e as alterações microbiológicas ao desenvolvimento de fungos filamentosos e leveduriformes.

O tempo de vida útil do caldo de cana é muito variável, sendo dependente das características físico-químicas e microbiológicas da matéria-prima, da tecnologia de processamento e do sistema de envase empregados, das propriedades de barreira do material de embalagem e fundamentalmente, das condições de distribuição, estocagem e comercialização, com destaque para a temperatura (SILVA, 2004). O escurecimento e o surgimento de sabores estranhos são os principais fatores que levam à rejeição do caldo, deflagrado por mecanismos de natureza química, enzimática e microbiológica (BUCHELI; ROBINSON, 1994; QUDSIEH et al., 2002; YUSOF; SHIAN; OSMAN, 2000).

Por isso, a escolha de um cultivar de cana-de-açúcar com menor propensão ao escurecimento enzimático, aliada à aplicação de tecnologias, visando à estabilização da bebida imediatamente após a extração do caldo são ações altamente recomendáveis.

Neste sentido, uma das maneiras de prolongar a vida de prateleira do caldo de cana é proceder com o processo de padronização e pasteurização, em que, na padronização do caldo são utilizados água, açúcar e ácido cítrico e, na pasteurização, é aplicado calor com o intuito de reduzir a microbiota presente no caldo. Como descrito anteriormente, o ácido cítrico pode ser adicionado ao caldo para reduzir o pH e inibir o escurecimento e o desenvolvimento microbiano (BELITZ, GROSCH; SCHIEBERLE, 2009).

Diversas alternativas tecnológicas têm se mostrado eficientes para estender a vida útil de caldo de cana.

Pesquisas desenvolvidas na Índia revelaram que a combinação de radiação gama (5 kGy) com a incorporação de conservadores químicos, resultou em um caldo de cana com vida de prateleira de 15 e 35 dias, sob estocagem a 26 e a 10 °C, respectivamente, sem efeito adverso na qualidade do produto final.

Contudo, o caldo de cana *in natura* alcançou uma vida útil de apenas 4 dias quando estocado a 5 °C.

Silva e Faria (2006) sugerem que o caldo de cana acidificado com ácido cítrico a um valor de pH equivalente a 4,0, esterilizado e envasado a quente e por sistema asséptico em garrafas de vidro podem atingir uma vida de prateleira de 60 e 30 dias, respectivamente, sem refrigeração.

É importante ressaltar que a combinação de métodos fundamentada na tecnologia dos obstáculos pode estender consideravelmente a vida de prateleira do caldo de cana. Exemplificando, o emprego da pasteurização, associada à incorporação de acidulantes/ antioxidantes e à irradiação pode resultar na obtenção de uma bebida com vida útil próxima a 60 e 90 dias, sob estocagem ambiente e refrigerada, respectivamente (SHANKLA et al.; 2012).

O caldo de cana industrializado (processado para consumo direto) tornou-se uma realidade no país, no ano de 2012. Produzido no interior paulista, a bebida padronizada, acondicionada em garrafas de vidro com tampas metálicas, pasteurizada e resfriada tem uma vida de prateleira, anunciada pelo fabricante, de 6 meses sem refrigeração (KANAÍ, 2013).

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A ASSEPSIA NA EMBALAGEM. **Embanews**, São Paulo, v. 8, n. 4, p. 24-26, abr. 1997.

AKED, J. In: KILCAST, P.; SUBRAMANIAM, P. **The stability and shelf-life of food**. New York: CRC Press LLC, 2000, cap. 11, p. 1-30, 2000.

ABREU, L. F.; FARIA, J. A. F. Evaluation of a system for chemical sterilization of packages. **Packaging Technology and Science**, London, v. 17, n. 1, p. 37-42, 2004.

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.

ANDRADE, S. R. R.; PORTO, E.; SPOTO, M. H. F. Avaliação da qualidade do caldo extraído de toletes de cana-de-açúcar minimamente processada, armazenados sob diferentes temperaturas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, supl., p. 51-55, 2008.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING OF MATERIALS (ASTM) 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.

AZEREDO, H. M. C. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004. 195 p.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. Conservação de alimentos por tratamento térmico. In: BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1998. v. 3, cap. 5.

BAYMA, C. **Tecnologia do açúcar**: da matéria prima à evaporação. Rio de Janeiro: Instituto do Açúcar e do Alcool, 1974. 292 p.

BELITZ, H.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food chemistry**. Heidelberg: Springer-Verlag, 2009. p. 429–65.

BERTOL, T. M. Utilização do caldo de cana na Alimentação de Suínos. **Instrução Técnica para o suinocultor**. EMBRAPA-CNPSA, 1997. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/publicacao_p5155b7.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2013.

BHUPINDER, K.; SHARMA, K. P.; HARINDER, K. Studies on the development and storage stability of ready to serve bottled sugarcane juice. **International Journal of Tropical Agriculture**, Hissar, v. 9, n. 2, p.128-134, 1991.

BLAKE, J. D.; CLARKE, M. L.; RICHARDS, G. N. Determination of organic acids in sugar cane process juice by high-performance liquid chromatography improved resolution using dual aminex HPX-87H cation exchange columns equilibrated to different temperatures. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, n. 398, p. 265-277, 1987.

BOTARO, J. A.; BORSATO, D.; BATISTUTI, J. P. Formulação de extrato aquoso de tremoço branco (*Lupinus Albus L.*) adicionado de suco de pitanga utilizando a Metodologia de Superfície de Resposta. **Alimentos e Nutrição**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 155-163, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução – RDC n.º 12, de 2 de janeiro de 2001**: regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm#>. Acesso em: 07 dez. 2013.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 19, de 19 de junho de 2013**: complementação dos padrões de identidade e qualidade para bebidas. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 07 dez. 2013.

BRANCO, I. G. et al. Avaliação da aceitabilidade sensorial de uma bebida à base de extrato hidrossolúvel de soja, polpa de morango e sacarose. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, Guarapuava, v. 9 n. 1, 2007.

BRUL, S. et al. In: ZEUTHEN, P.; BOGH-SORESHEN, L. **Food preservation techniques**. New York: CRC Press LLC, 2000. cap. 23, p. 1-28.

BUCHELI, C. S.; ROBINSON, S. P. Contribution of enzymatic browning to color in sugarcane juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 42, n. 2, p. 257-261, 1994.

BUCHNER, N. **Aseptic processing and packaging of food particulates**. In: WILLHOFT, E. M. A. **Aseptic processing and packaging of particulates foods**. Glasgow: Blackie Academic and Professional, 1993. cap.1, p.1-22.

CHAUHAN, O. P. et al. Studies on preservation of sugarcane juice. **International Journal of Food Properties**, Philadelphia, v. 5, n. 1, p. 217-229, 2002.

CHEN, C. S.; SHAW, P. E.; PARISH, M. E. Orange and tangerine juices. In: NAGY, S.; CHEN, C. S.; SHAW, P. E. (Eds.). **Fruit Juice Processing Technology**. Auburndale, Florida: Agrosience, 1993. p. 110–165.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento de safra brasileira:** cana-de-açúcar, segundo levantamento, agosto/2013. Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_01_06_09_14_50_boletim_cana_3o_lev_safra_2010_2011.pdf>. Acesso em: 15 dez. 2013.

_____. **Acompanhamento de safra brasileira:** cana-de-açúcar, terceiro levantamento, janeiro/2011. Disponível em: <

http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_08_08_09_39_29_boletim_cana_portugues_-_abril_2013_1o_lev.pdf>. Acesso em: 15 dez. 2013.

DA SILVA PEREIRA, A. C. et al. Desenvolvimento de bebida mista à base de água de coco, polpa de abacaxi e acerola. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 59, n. 4, 2009.

DANTAS, R. L. et al. Perfil da qualidade de polpas de frutas comercializadas na cidade de Campina Grande/ PB. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 5, n. 5, p. 61-66, 2010.

DELGADO, A. A. **A clarificação do caldo de canas despalhadas manualmente e a fogo, em função do tempo de espera para a industrialização.** 1975. 148 f. Tese (Livre Docência) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1975.

DEMATTE, J. L. I. Modernizada, canicultura é líder em produção. **Visão Agrícola**, Piracicaba, n. 1, p. 60 - 67, 2004.

EGAN, B. T. The infection process in sour storage rot. **Proc. Queensland Soc. Sugar Cane Technol.**, v. 32, p. 21-24, 1965.

EGGLESTON, G. Deterioration of cane juice: sources and indicators. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 78, n. 1, p. 95-103, 2002.

EISSA, H. A. et al. Preservation of sugarcane juice by canning 1. effect of thermal and chemical pre-treatments on the enzymatic browning of sugarcane juice. **Journal of American Science**, Lansing, v. 6, n. 9, p. 883-888, 2010.

EMPREENDEDORES apostam no suco pronto saudável e (muito) lucrativo. **Pme Estadão**. Disponível em: <

<http://pme.estadao.com.br/noticias/noticias,empreendedores-apostam-no-suco-pronto-saudavel-e-muito-lucrativo,3589,0.htm>>. Acesso em: 16 dezembro 2013.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1994. 652 p.

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, 2., 1993. **Anais...** Campinas, 1993. p. 7-28.

FONSECA, H. Princípios e métodos gerais de conservação de alimentos: conservação pelo calor e pelo frio. In: CAMARGO, R. (Coord.). **Tecnologia dos produtos agropecuários: alimentos**. São Paulo: Nobel, 1984. cap. 5, p. 73-95.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.

FRAZIER, C. W.; WESTHOFF, C. D. **Food microbiology**. New Delhi: Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited, 1995. p.187–195.

FU, B. AND LABUZA, T. P. Shelf life prediction: theory and application. **Food Control**, Kidlington, v. 4, p. 125-133, 1993.

GALLO, C. R.; CANHOS, V. P. Contaminantes bacterianos na fermentação alcoólica: revisão. **STAB. Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 9, n. 4/5, p. 35-40, 1991.

GANDRA, E. A. et al. Condições microbiológicas de caldos de cana comercializados em Umuarama (PR). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v. 01, n. 02, p. 61-69, 2002.

GOMES, M. S. **Estudo da pasteurização de suco de laranja utilizando ultrafiltração**. 2006. 84 f. Dissertação (Mestre e Engenharia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

HOING, P. **Principles of sugar technology**. New York: Elsevier Publishing Company, 1973. 767 p.

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Estudo nacional da despesa familiar: tabela de composição de alimentos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Varela, 1999. 137 p.

KANAÍ. Disponível em: <<http://www.kanai.com.br/>>. Acesso em: 19 dez. 2013.

KARTHIKEYAN, J.; SAMIPILLAI, S. S. Sugarcane in therapeutics. **Journal of Herbal Medicine and Toxicology**, Udaipur, v. 4, n. 1, p. 9–14, 2010.

KHARE, A. et al. Shelflife enhancement of sugarcane juice. **Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition**, Zagreb, v. 7, n. 3-4, p. 179-183, 2012.

KITOKO, P. M. et al. Avaliação microbiológica do caldo de cana comercializado em Vitória. **Higiene Alimentar**, Espírito Santo, v. 18, n. 119, p. 73-77, 2004.

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.

KOBLITZ, M. G. B.; MORETTI, R. H. Polysaccharide removal from refined sugar syrup. **Internacional SugarJournal**, [s.l.], v. 101, n. 1206, p. 323-325, 1999.

KRISHNAKUMAR, T.; DEVADAS, C. T. Microbiological changes during storage of sugarcane juice in different packaging materials. **Beverage and Food World**, Mumbai, v. 33, n. 10, p. 82–83, 2006.

KUNITAKE, M. T. **Processamento e estabilidade de caldo de cana acidificado**. 2012. 131 f. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, 2012.

LEISTNER, L. Combined methods for food preservation. In: RAHMAN, M. S. (Ed.). **Handbook of food preservation**. New York: Marcel Dekker, 1999. p. 457-485.

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

LEITÃO, M. F. F Microbiologia de sucos e produtos ácidos. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 33, p. 9-42, mar. 1973.

LEWIS, M.; HEPPELL, N. **Continuous thermal processing of foods: pasteurization and uht sterilization**, Gaithersburg: Aspen Publishers, 2000. 447 p.

LIMA, U. A. L. **Agroindustrialização de frutas**. São Paulo: FEALQ, 1998. 151 p.

LO, W. M. et al. Evaluation of freeze-concentrated sugar-cane juice. **Journal Tropical Agriculture and Food Science**, Kuala Lumpur, v. 35, n. 1, p. 121-129, 2007.

LOPES, G.; CRESTO, R.; CARRARO, C. N. M. Análise microbiológica de caldos de cana comercializados nas ruas de Curitiba – Pr. **Revista Higiene Alimentar**, Mirandópolis, v. 20, n. 147, p. 40-44, 2006.

LÓPEZ- GOMES, A. et al. **Food packaging and shelf life: a practical guide**. New York: CRC Press LLC, 2010. cap. 10, p. 179-199.

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

MAHALE, D. P.; KHADE, R. G.; VAIDYA, V. K. Microbiological analysis of street vended fruit juices from Mumbai city, India. **Internet Journal of Food Safety**, Pullman, v.10, p. 31-34, 2008.

MAO, L. C.; XU, Y. Q.; QUE, F. Maintaining the quality of sugarcane juice with blanching and ascorbic acid. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 104, n. 2, p. 740-745, 2007.

MISHRA, B. B.; GAUTAM, S.; SHARMA, A. Shelf life extension of sugarcane juice using preservatives and gamma radiation processing. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 76, n. 8, p. 573 – 578, 2011.

MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments**. New York: John Wiley, 1984.

MORITA, R. Y. **Bacteriological reviews**: psychrophilic bacteria, 1975. p. 144-167.

NASCIMENTO, R. F. et al. Avaliação do tratamento térmico na composição química e na qualidade da cajuína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 217- 221, 2003.

OHLSSON, T., BENGTSSON, N. **Minimal processing technologies in the food industry**. New York: CRC Press LLC, 2002. p. 175–195.

OLIVEIRA, A. C. G. et al. Análise das condições do comércio de caldo de cana em vias públicas de municípios paulistas. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 13, p. 6-18, 2006a.

OLIVEIRA, A. C. G. et al. Microbiological evaluation of sugarcane juice sold at street stands and juice handling conditions in São Carlos, São Paulo, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, p. 1111-1114, 2006b.

OLIVEIRA, A. C. G. **Efeitos do processamento térmico e da radiação gama na estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de caldo de cana puro e adicionado de suco de frutas, armazenado sob refrigeração**. 2007.105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

OLIVEIRA, A. C. G. et al. Percepção dos consumidores sobre o comércio de alimentos de rua e avaliação do teste de mercado do caldo de cana processado e embalado em seis municípios do estado de São Paulo, Brasil. **Revista Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 4, p. 397-403, 2007.

PARVATHY, K. Bottling of sugarcane juice, proceedings of the schemes of studies on harvest & post harvest technology (ICAR), Coimbatore Center. **Annual Report**, [s.l], p. 13-16, 1983.

PATTON, N. H.; DUONG, M. Sugarcane phenolics and first expressed juice colour. Part II: concentration of phenolics in sugarcane and colour of first expressed juice. **International Sugar Journal**, London, v. 94, n. 1123, p. 205, 1992.

POTTER, N. N.; HOTCHKISS, J. H. **Food Science**. 5th ed. New York: Chapman e Hall, 1995. p.139-199.

PRADO, S. P. T. et al. Avaliação do perfil microbiológico e microscópico do caldo de cana *in natura* comercializado por ambulantes. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, ed. 69, p. 55-61, 2010.

PRASSAD, K.; NATH, N. Comparison of sugarcane juice based beverage optimisation using response surface methodology with fuzzy method. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 4, n. 3-4, p. 109-115, 2002.

PRATI, P. **Desenvolvimento de processo para estabilização de caldo de cana adicionado de sucos de frutas ácidas**. 2004. 169 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

PRATI, P.; MORETTI, R. H.; Study of clarification process of sugar cane juice for consumption. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 3, p. 776-783, 2010.

PRATI, P.; MORETTI, R. H.; CARDELLO, H. M. A. B. Elaboração de bebida composta por mistura de garapa parcialmente clarificada-estabilizada e sucos de frutas ácidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p.147-152, 2005.

QUDSIEH, H.Y.M. et al. Effect of maturity on chlorophyll, tannin, color and polyphenol oxidase (PPO) activity of sugarcane juice (*Saccharum officinarum* Var. Yellow Cane). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, p. 1615-1618, 2002.

REUTER, H. Processes for packaging materials sterilization and system requirements. In: REUTER, H. **Aseptic Processing of Foods**. Hamburg: Technomic, 1993. chap.5, p.155-165.

REZZADORI, K. **Pasteurização térmica e com membranas de caldo de cana adicionado de suco de maracujá**. 2010. 161 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

RIPOLI, T. C. C.; RIPOLI, M. L. C. **Biomassa de cana-de-açúcar: colheita, energia e ambiente**. Piracicaba: Barros & Marques Ed. Eletrônica, 2004.

RODRIGUES, M.I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos**. Campinas: Cárita Editora, 2^a. edição, 2009.

ROLAND, N. Aseptic packaging system for PET bottles. **Fruit Processing**, Strassenhaus, v. 6, n. 9, p. 367-371, 1996.

SALOMON, S. Post-harvest deterioration of sugarcane. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 11, n. 2, p. 109-123, 2009.

SANCHO; S. O. et al. Alterações químicas e físico-químicas no processamento de suco de caju (*Anacardium occidentale L.*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 878-882, 2007.

SANKHLA, S. et al. Preservation of sugarcane juice using hurdle technology. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 14, n. 1, p. 26–39, 2012.

SANTOS, F. A. et al. Análise qualitativa das polpas congeladas de frutas produzidas pela SUFRUTS, MA. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 119, p. 14-22, 2004.

SENAI/SEBRAE. **Elementos de apoio para o sistema APPCC**. Brasília, 1999. 371 p.

SILVA, K. S. **Avaliação de processo de industrialização de caldo de cana-de-açúcar (*Sacharum ssp*) por enchimento a quente e sistema asséptico**. 2004. 111 f. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2004.

SILVA, K. S.; FARIA, J. A. F. Avaliação da qualidade de caldo de cana envasado a quente e por sistema asséptico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 754-758, 2006.

SIMÃO, A.M. **Aditivos para alimentos sob o aspecto toxicológico**. 2. ed. São Paulo: Nobel, 1985.

SINGH, R. P; ANDERSON, B. A. In: STEELE, R. (Eds.). **Understanding and measuring the shelf-life of food**. Boca Raton, USA: CRC Press, 2004. cap. 1, p. 3-19.

SINGH, R. K. et al. Optimization of Process and Physico-Chemical Properties of Ready-to-Serve (RTS) Beverage of Cane Juice with Curd. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 14, n. 4, p. 405–411, 2012.

SOCCOL, C. R.; SCHWAB, A.; KATSOKA, C. E. Avaliação microbiológica do caldo de cana (garapa) na cidade de Curitiba. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 8, p.116-125, 1990.

STANCANELLI, M. **Efeito ergogênico do caldo de cana**. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

STUPIELLO, J. P. A cana-de-açúcar como matéria-prima. In: PARANHOS, S. B. **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 2, p. 30-51.

SUZART, C. A. G. **Desenvolvimento de tecnologia para estabilização física, sensorial e microbiológica de caldo de cana**. 2009. 138 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

UEKI, R. **Ação do campo magnético pulsado sobre as propriedades do caldo de cana ao longo do armazenamento**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos) - Universidade de São Paulo, 2013.

WILEY, R. C. **Frutas y hortalizas minimamente processadas y refrigeradas**. Zaragoza: Acribia, 1997. 362 p.

VANZO, S. P.; AZEVEDO, R. V. P. Detecção de *S. aureus* em manipuladores de alimentos: perfil de resistência a antibióticos e quimioterápicos. **Higiene Alimentar**, Mirandópolis, v. 17, p. 114-123, 2003.

YASMEEN, G. Workers in the urban “informal” food sector: innovative organizing strategies. **Food Nutrition and Agriculture**, Rome, v. 29, p. 32-41, 2001.

YASMIN, A.; MASSOD, S.; ABID, H. Biochemical analysis and sensory evaluation of naturally preserved sugarcane juice. **Pakistan Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, Lahore, v. 3, n. 43, p. 144-145, 2010.

YUSOF, S.; SHIAN, L. S.; OSAMAN, A. Changes in quality of sugarcane juice upon delayed extraction and storage. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 68, p. 395–401, 2000.

CAPÍTULO 2:

PADRONIZAÇÃO DE CALDO DE CANA PASTEURIZADO

RESUMO

A padronização do caldo de cana-de-açúcar, visando à sua industrialização, é uma etapa importante do processamento, devido à grande variação observada na composição desta matéria-prima. O objetivo deste estudo consistiu na padronização do caldo de cana, baseada na identificação do *ratio* (sólidos solúveis/acidez titulável) de maior aceitação sensorial; empregando-se para este fim, um delineamento central composto rotacional, com onze tratamentos. As formulações (tratamentos), preparadas a partir do caldo previamente pasteurizado, foram elaboradas e submetidas ao teste de escala hedônica de nove pontos para avaliação da impressão global, a uma temperatura próxima a 12 °C, por uma equipe de 52 provadores. As variáveis independentes estudadas foram o teor de sólidos solúveis (SS), na faixa entre 13,1 e 25,9 °Brix e a acidez titulável (AT), entre 0,02 e 0,09 g ácido cítrico/100 mL de caldo. Como variável dependente considerou-se as médias das notas atribuídas à impressão global para cada uma das onze formulações. As médias obtidas nos testes de escala hedônica situaram-se entre 6 (gostei ligeiramente) e 7 (gostei moderadamente), para as onze formulações elaboradas. O teste de Tukey não apontou diferença significativa ($p > 0,05$), no que se refere à impressão global, entre as médias das formulações nas faixas de AT e SS estudadas. Aplicando o modelo de classificação hierárquica para a análise estatística dos resultados, contemplou-se os efeitos de AT e do teor de SS dentro de AT, além do provador. Verificou-se que apenas o efeito de AT foi significativo ($p < 0,05$) na aceitação da bebida. A comparação estatística entre os níveis de AT revelou que aquele de 0,055 % apresentou diferença significativa dos demais, a 5%. Considerou-se que a melhor formulação foi aquela com AT 0,09%, por ser esta a acidez mais elevada, com um pH equivalente a 3,86. Concluiu-se que as formulações de caldo de cana estudadas, foram bem aceitas pela equipe de provadores, em uma ampla faixa de SS e AT avaliadas.

Palavras chaves: padronização, delineamento fatorial, garapa.

ABSTRACT

The standardization of sugarcane juice is an important processing step due to the great variation in the composition of sugarcane. This study targeted the standardization of sugarcane juice based on the identification of the ratio (soluble solids/titratable acidity) of greater sensory acceptance. For this purpose a rotational central composite design with eleven treatments was used. The formulations (treatments), prepared with pasteurized sugarcane juice, were submitted to nine-point hedonic scale tests to assess the overall impression, at a temperature of about 12 °C, by a team of 52 panelists. The independent variables were the total soluble solids (SS), in the range between 13.1 and 25.9 °Brix, and titratable acidity (TA), between 0.02 and 0.09 g citric acid /100 mL of juice. The dependent variable was the average scores assigned to the overall impression for each of the eleven formulations. The average scores of the hedonic scale tests ranged from 6 (“like slightly”) and 7 (“like moderately”). The Tukey test showed no significant difference ($p > 0.05$) among the means of the formulations. Applying the model of hierarchical classification for statistical analysis, the effects of TA and SS content within TA were tested. It was found that only TA effect was significant ($p < 0.05$) for juice’s acceptance. The statistical comparison among the levels of TA revealed that only 0.055% level was significantly different from the others. The 19.5 °Brix and TA 0.09% formulation was considered the best one, with a pH near to 3.9. Furthermore, it was concluded that all formulations of sugarcane juice were well accepted by the team of panelists in a wide range of SS and TA.

Key words: standardization, factorial design, sugarcane juice.

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar, pertencente ao gênero *Saccharum*, é uma matéria-prima de grande versatilidade e viabilidade econômica. Seu êxito produtivo justifica-se pela fácil adaptação ao clima e solo brasileiros, sendo cultivada em grande parte do território nacional (DEMATTE, 2004). Tal matéria-prima é constituída basicamente por caldo (composto por água, açúcares, cinzas e materiais nitrogenados) e bagaço (constituído principalmente por fibras) (OLIVEIRA et al., 2007; PRADO et al., 2010; YASMIN; MASSOD; ABID, 2010).

O caldo de cana é resultante da moagem da cana em moendas elétricas ou manuais e é caracterizado como uma bebida de baixa acidez, com pH variando entre 5,0 e 5,5; atividade de água elevada (0,98 – 0,99), coloração nas tonalidades parda e verde escura, composição variável em função da variedade, estágio de maturação, solo, condições climáticas e agrícolas (DELGADO, 1975).

O mercado de caldo de cana para consumo final insere-se no setor informal de alimentos e é constituído, majoritariamente, por vendedores ambulantes, quase sempre em precárias condições higiênico-sanitárias (SILVA; FARIA, 2006). Por outro lado, a sua venda em quiosques localizados em áreas litorâneas e em *shopping centers* é uma realidade no país (OLIVEIRA et al.; 2007). No entanto, esta prática tem exigido a instalação de moendas nos pontos de venda, frequentemente mal higienizadas; a necessidade de descontaminação da cana-de-açúcar antes da moagem (procedimento muitas vezes omitido) e a geração de grande volume de resíduo (bagaço).

Ademais, a composição da bebida, com destaque para o teor de sólidos solúveis e o rendimento obtido na extração do caldo são variáveis ao longo do ano, evidenciando a necessidade de padronização do *ratio* do caldo (OLIVEIRA et al, 2007; PRADO, et al. 2010; SANKHLA et al., 2012). A acidez titulável, os teores de sólidos solúveis, de açúcares redutores e totais, de vitamina C e o pH são importantes parâmetros para a padronização de produtos alimentícios e para a análise de alterações ocorridas durante processamento e a estocagem de produtos de origem vegetal (DANTAS et al., 2010).

Neste contexto, pesquisas têm sido conduzidas a partir da elaboração do caldo de cana processado com valores fixos de pH, de sólidos solúveis, de acidez titulável e do teor de polpa de frutas ácidas (KUNITAKE, 2012; LO et al., 2007; PRATI, 2004; YASMIN; MASSOD; ABID, 2010).

Em estudo de Oliveira (2007), caldo de cana pasteurizado foi acidificado com sucos de limão e abacaxi e submetidos a testes de aceitação sensorial para escolha das melhores concentrações de suco de frutas a ser adicionado. Os resultados apontaram que a adição de 4% de suco de limão e 10% de suco de abacaxi ao caldo de cana foram as concentrações preferidas pelos provadores.

Prati, Moretti e Cardello (2005) produziram três formulações de caldo de cana parcialmente clarificado-estabilizado, cada formulação, adicionada de um de suco de fruta, a saber: 5% de suco de maracujá; 10% de suco de abacaxi e 7,5% de suco de limão. Cada formulação foi padronizada a pH 4 pela adição de ácido cítrico. Análises sensoriais das amostras foram realizadas e os resultados indicaram que a mistura preferida foi aquela elaborada com garapa clarificada e 5% de suco de maracujá, seguida da mistura que continha 10% de suco de abacaxi.

Apesar da popularidade do consumo do caldo de cana no país, a industrialização deste produto é pouco explorada, sendo que poucas marcas encontram-se disponíveis no mercado interno (KANAÍ, 2013).

As vantagens proporcionadas pela industrialização do caldo de cana referem-se à possibilidade de disponibilização de uma bebida segura e de elevada qualidade, em qualquer época do ano, independente do período de safra; ao aumento da vida útil e extensão do consumo a locais distantes da região de plantio, com a diminuição do volume de matéria-prima transportado, resultando na diminuição de custos de transporte.

O presente capítulo descreve os resultados do estudo cujo objetivo consistiu na preparação e na avaliação da palatabilidade de onze formulações de caldo de cana pasteurizado, preparadas com diferentes teores de sólidos solúveis e acidez titulável. Para este fim, avaliou-se a aceitação sensorial das formulações com diferentes *ratios*, empregando-se um delineamento central composto rotacional (DCCR).

2 MATERIAL E MÉTODOS

O fluxograma de processamento do caldo de cana destinado ao teste de formulações é exibido na Figura 2.1.

Figura 2.1 - Fluxograma de processamento de caldo de cana puro/integral para o teste de formulações.

2.1 Extração do caldo de cana

A matéria-prima utilizada (*Saccharum officinarum*, cultivar SP 3250) previamente raspada, foi gentilmente doada pela Tecnocana Tecnologia em Cana Ltda, Santa Cruz das Palmeiras/SP.

Após a higienização da cana por imersão em água clorada contendo 50 mg/L de cloro residual livre (CLR), a 25 °C, aproximadamente, durante 30 minutos, foi realizada a extração do caldo utilizando uma moenda elétrica constituída por cilindros de aço inoxidável, fabricada pela Maqtron – Joaçaba/SC.

A etapa de filtração (Figura 1) foi realizada em peneira metálica, para remoção de fibras grosseiras.

2.2 Processamento térmico do caldo de cana destinado à padronização

O caldo de cana recém-extraído foi pasteurizado a 95 °C/30 s em um trocador de calor a placas elétrico com vazão nominal de 300 L/h, equipado com válvula pneumática de retorno de produto não pasteurizado, construído pela Sumá Indústria e Comércio Ltda - Campinas/SP.

O referido binômio tempo x temperatura (95°C/ 30 s), foram baseados em pesquisa anterior, descrita em Kunitake (2012) para caldo de cana pasteurizado. Nestas condições de tratamento, a autora verificou a inativação enzimática da peroxidase, o que resulta numa bebida com menor taxa de escurecimento.

Após o tratamento térmico a bebida foi resfriada e envasada assepticamente em garrafas de polietileno tereftalato (PET) de 250 mL, fechadas com tampas de rosca de polipropileno, ambas adquiridas da Plasvipack Importação e Exportação – São Paulo/SP.

As garrafas foram descontaminadas por aspersão de solução de ácido peracético (APA) 0,05% (v/v)/ 5 s/ 45 °C. O agente sanitizante (Proxitane® 1512 AL) foi doado pela Thech Desinfecção Ltda - São Paulo/SP.

O envase foi conduzido por meio de uma dosadora gravimétrica micro-processada semi-automática de fabricação Polienva-Movitron - São Paulo/SP, em cabina de fluxo de ar unidirecional (ISO classe 5) horizontal de fabricação Veco do Brasil - Campinas/SP.

As unidades do lote processado foram estocadas em estufa incubadora BOD de fabricação Fanem® – São Paulo/SP, a $7 \pm 0,5$ °C durante 48 h, aproximadamente, e destinadas à preparação das formulações.

2.3 Preparo das formulações

Para definir a formulação de melhor aceitação, foi realizado um delineamento central composto rotacional (DCCR) com 11 tratamentos, onde as variáveis independentes incluíram a acidez titulável/AT (expressa em % de ácido cítrico) e a % de sólidos solúveis/SS (expressa em °Brix). Os níveis de AT foram fixados entre 0,02 e 0,09 g ácido cítrico/100 mL de caldo e os de SS, entre 13,1 e 25,9 °Brix. O delineamento experimental foi elaborado em cinco níveis (-1,41; -1; 0; +1; +1,41), sendo três pontos centrais e quatro axiais, totalizando 11 formulações (Tabelas 2.1 e 2.2).

Os níveis de AT e SS estabelecidos foram baseados em pesquisa anterior, descrita em Kunitake (2012), que apontou ampla variação no teor de sólidos solúveis e acidez titulável, determinados no caldo de cana *in natura*. A Tabela 2.1 apresenta os níveis das variáveis estudadas.

Tabela 2.1 - Variáveis independentes teóricas codificadas e não codificadas.

Variável/Código	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Acidez titulável (% de ácido cítrico)	0,020	0,030	0,055	0,080	0,090
Sólidos solúveis (°Brix)	13,1	15,0	19,5	24,0	25,9

($-\alpha$) ponto axial inferior, (-1) nível inferior, (0) ponto central, (+1) nível superior, ($+\alpha$) ponto axial superior, $\alpha = 1,4142$

A matriz do planejamento fatorial é mostrada na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 - Matriz do delineamento central composto rotacional para padronização de caldo de cana.

FORMULAÇÃO	FATORES (variáveis independentes)		RESPOSTA (variável dependente)
	Acidez titulável (% ácido cítrico)	Sólidos solúveis (°Brix)	
01	(-1)	(-1)	Média das notas para <i>impressão global</i> da bebida no teste de escala hedônica de nove pontos
02	(+1)	(-1)	
03	(-1)	(+1)	
04	(+1)	(+1)	
05	(0)	(0)	
06	(0)	(0)	
07	(0)	(0)	
08	($-\alpha$)	(0)	
09	($+\alpha$)	(0)	
10	(0)	($-\alpha$)	
11	(0)	($+\alpha$)	

($-\alpha$) ponto axial inferior, (-1) nível inferior, (0) ponto central, (+1) nível superior, ($+\alpha$) ponto axial superior, $\alpha = 1,4142$.

2.4 Caracterização físico-química do caldo de cana integral pasteurizado

Os testes físico-químicos foram executados conforme metodologia da Association of Official Analytical Chemists / AOAC (1997). Para a determinação do pH foi utilizado um medidor Analyser modelo 300 M. O teor de sólidos solúveis foi determinado por um refratômetro portátil digital Reichert modelo AR 200. A acidez total titulável foi determinada utilizando-se NaOH 0,1 M; sendo o ponto de viragem aquele o qual o pH atingiu o valor de 8,3. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.5 Análise microbiológica do caldo de cana integral pasteurizado

Análises de mesófilos aeróbios totais do caldo *in natura* e do caldo integral pasteurizado foram realizadas com a finalidade de quantificar a população microbiana antes e após o tratamento térmico, utilizando-se as metodologias descritas por Silva et al. (2007).

Complementarmente, para o caldo integral pasteurizado foram realizadas contagens de micro-organismos psicrótróficos.

Os testes microbiológicos foram conduzidos no Laboratório de Bioprocessos do Departamento de Engenharia de Alimentos da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – FZEA/ USP, em Pirassununga, São Paulo. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.6 Padronização do caldo de cana pasteurizado

O lote processado, visando ao preparo das formulações pré-definidas no delineamento experimental, foi fracionado em 11 partes, procedendo-se a um balanço de massa (Equações 1 a 7) para determinar as massas de água mineral, sacarose e ácido cítrico a serem adicionadas ao caldo de cana.

As equações relativas ao balanço de massa para a padronização da bebida são mostradas abaixo, sendo:

C = massa de caldo inicial (g).

P = massa de caldo padronizado (g).

W = massa de água adicionada (g).

S = massa de sacarose adicionada (g).

A = massa de ácido cítrico adicionada (g).

x_{sc} = fração mássica de sacarose no caldo inicial.

x_{sp} = fração mássica de sacarose no caldo padronizado.

x_{ac} = fração mássica de ácido cítrico no caldo inicial.

x_{ap} = fração mássica de ácido cítrico no caldo padronizado.

Para a padronização do teor de sólidos solúveis, quando necessário a adição de água ($x_{sc} > x_{sp}$), a massa de água adicionada ao caldo puro foi calculada utilizando-se as equações 1 e 2, as quais representam o balanço de sacarose e o balanço de massa global, respectivamente:

$$x_{sc} \cdot C = x_{sp} \cdot P \quad (\text{Eq.1})$$

$$C + W = P \quad (\text{Eq.2})$$

Assim, determinou-se a massa de água a ser adicionada (W) para obtenção do teor de sólidos solúveis pretendido.

Na formulação em que foi necessária a adição de sacarose ($x_{sc} < x_{sp}$), a massa deste componente adicionada foi calculada pelos balanços de água e global, mostrados nas equações 3 e 4.

$$(1-x_{sc}).C = (1-x_{sp}).P \quad (\text{Eq.3})$$

$$C + S = P \quad (\text{Eq.4})$$

Assim, determinou-se a massa de sacarose a ser adicionada (S).

Quando necessária a adição de água para atingir o teor de acidez titulável exigido na formulação ($x_{ac} > x_{ap}$), adicionou-se água, aplicando-se as eq. 5 e eq. 6:

$$x_{ac}.C = x_{ap}.P \quad (\text{Eq.5})$$

$$C + W = P \quad (\text{Eq.6})$$

Assim, determinou-se a massa de água a ser adicionada (W).

Finalmente, quando necessário a acidificação do caldo ($x_{ac} < x_{ap}$), adicionou-se ácido cítrico, pelo balanço mostrado na eq. 7.

$$x_{ac}.C + A = x_{ap}.P \quad (\text{Eq.7})$$

Desta forma, determinou-se a massa de ácido cítrico a ser adicionada (A).

2.7 Análise sensorial

Os testes sensoriais aplicados incluíram seguiram os procedimentos descritos por Stone e Sidell (1985). Para a análise sensorial do caldo padronizado pasteurizado utilizou-se o teste de escala hedônica estruturada de nove pontos para avaliação da impressão global da bebida. Uma equipe de 52 provadores, apreciadores de caldo de cana, com faixa etária média de 22 anos, expressaram sua impressão global em relação às onze formulações. As amostras foram servidas monadicamente (cerca de 40 mL) a uma temperatura próxima a 12 °C, juntamente

com um copo de água e a ficha de avaliação (Apêndice A). Para evitar a fadiga dos provadores, a análise sensorial foi dividida em três sessões em blocos incompletos balanceados (BIB).

A realização dos testes sensoriais com consumidores foi aprovada pelo comitê de ética da FZEA/ USP.

2.8 Análise estatística dos resultados

Os resultados foram tratados estatisticamente a 5 % de significância utilizando-se o *software* SAS 9.2, aplicando-se o modelo de classificação hierárquica.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A massa de cana recebida, previamente raspada, foi próxima a 73 kg e o volume de caldo extraído equivalente 35 L.

Os resultados obtidos na caracterização físico-química do caldo de cana integral pasteurizado, visando ao preparo das formulações, podem ser observados na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 - Rendimento e características físico-químicas do caldo de cana integral recém-pasteurizado.

Rendimento ¹ (%)	48
pH	5,32
Teor de sólidos solúveis (°Brix)	18,4
Acidez titulável (% m/v de ácido cítrico)	0,05

¹ em relação à massa de matéria-prima raspada.

A contagem de mesófilos aeróbios totais no caldo *in natura* foi de $4,0 \times 10^4$ UFC/mL enquanto que as contagens de mesófilos e psicrotrofos para o caldo pasteurizado refrigerado foram inferiores a 1,0 UFC/mL.

A fim de verificar se cada formulação atingiu os níveis de acidez e sólidos solúveis estabelecidos preliminarmente, foram feitas medições para confirmação da eficácia do balanço de massa.

As massas adicionadas dos componentes para obtenção de cada formulação são exibidas na Tabela 2.4.

Tabela 2.4 – Massa total (M), em gramas (g) de componente, para o preparo das formulações de caldo de cana.

Formulação	M _{caldo}	M _{água}	M _{ác cítrico}	M _{sacarose}	AT	SS	ratio
01	1785,3	400,0	0,0362	0	0,029	14,9	513,8
02	1802,4	408,5	0,5259	0	0,078	18,1	232,0
03	1505,8	10,0	0,0000	115,7	0,030	23,9	796,7
04	1807,0	0,0	0,6708	133,1	0,082	24,3	296,3
05	1801,1	0,0	0,3100	29,1	0,057	19,8	347,4
06	1802,2	0,0	0,2121	24,6	0,057	19,0	333,3
07	1802,3	0,0	0,2126	24,6	0,052	19,4	373,1
08	1638,7	28,7	0,0000	26,9	0,022	19,6	890,9
09	1795,8	0,0	0,5517	24,5	0,084	19,4	230,9
10	1794,4	726,0	0,0000	0,0	0,060	13,3	221,7
11	1818,1	0,0	0,1511	184,0	0,054	25,7	475,9

Mcaldo – massa de caldo de cana integral pasteurizado (18,4 °Brix e 0,05% m/v de ácido cítrico).

AT – acidez titulável expressa em %m/v de ácido cítrico.

SS – teor de sólidos solúveis expresso em °Brix.

Ratio – SS/AT.

A Tabela 2.5 mostra a matriz do DCCR com os valores reais das variáveis dependentes nas formulações testadas, bem como os *ratios* e as médias das notas obtidas nos testes sensoriais. Os valores em negrito destacam a maior e a menor média obtidas na avaliação da aceitação global da bebida.

As médias de notas para impressão global situaram-se entre 6 (gostei ligeiramente) e 7 (gostei moderadamente).

Silva (2004), com a finalidade de estudar a melhor formulação de caldo de cana, elaborou diferentes formulações utilizando um planejamento fatorial do tipo 2^2 com 5 níveis. Para a padronização da bebida, a autora variou valores de pH (3,6

– 5,3) e sólidos solúveis (12,2 – 17,8). A variável dependente, ou resposta, foi a aceitação sensorial por uma equipe de 30 provadores não treinados. A formulação mais aceita foi a que obteve pH 4 e teor de sólidos solúveis maior que 15 °Brix.

Yasmin, Massod e Abid (2010) obtiveram médias próximas a 8 (gostei muito) para impressão global em teste de escala hedônica de 9 pontos, de caldo de cana pasteurizado a 90 °C/ 5 min com ajuste do pH com ácido cítrico para 4,3 ; 21,2 °Brix de sólidos solúveis e 0,63 % de acidez titulável.

Tabela 2.5 - Valores reais para os fatores estudados na padronização de caldo de cana e resposta para a aceitação sensorial.

FORMULAÇÃO	FATORES (variáveis independentes)		Ratio	RESPOSTA (médias de notas para impressão global*)
	Acidez titulável (% ácido cítrico)	Sólidos solúveis (°Brix)		
01	0,029 (-1)	14,9 (-1)	513,8	6,3 a
02	0,078 (+1)	18,1 (-1)	232,0	6,8 a
03	0,030 (-1)	23,9 (+1)	796,7	6,4 a
04	0,082 (+1)	24,3 (+1)	296,3	7,0 a
05	0,057 (0)	19,8 (0)	347,4	6,5 a
06	0,057 (0)	19,0 (0)	333,3	6,9 a
07	0,052 (0)	19,4 (0)	373,1	6,3 a
08	0,022 (- α)	19,6 (0)	890,9	6,3 a
09	0,084 (+ α)	19,4 (0)	230,9	6,5 a
10	0,060 (0)	13,3 (- α)	221,7	6,0 a
11	0,054 (0)	25,7 (+ α)	475,9	6,1 a

(- α) ponto axial inferior, (-1) nível inferior, (0) ponto central, (+1) nível superior, (+ α) ponto axial superior, $\alpha = 1,4142$.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de significância.

*obtidas no teste de escala hedônica de nove pontos.

A comparação estatística apresentada na Tabela 2.5 mostrou que as médias de notas para impressão global não diferiram entre si ($p > 0,05$), a despeito da ampla faixa de SS e AT estudadas.

Para determinar a melhor formulação do caldo de cana, foi feita uma abordagem estatística alternativa, aplicando-se o modelo de classificação hierárquica.

Neste modelo, quando o nível *i* do fator A no nível *j* do fator B não for o mesmo nível *i* do fator A em outro nível do fator B; isto é, quando se muda o nível de um fator (fator de agrupamento principal) mudam-se também os níveis do outro fator (fator de subagrupamento). Nestes casos há uma relação de hierarquia entre os fatores, ou seja, há um fator principal e um outro fator que se encontra como que “aninhado” dentro deste fator principal. O fator aninhado ou de subagrupamento não pode ser considerado sem que se indique em qual nível do fator principal ele está aninhado (CHAVES, 2005).

Para a análise do modelo de classificação hierárquica no experimento em questão consideraram-se os efeitos (níveis) de AT como o fator de agrupamento principal. Sendo assim, os efeitos do teor de SS foram considerados como fator de subagrupamento, isto é, o teor de SS foi “aninhado” dentro de AT. O provador também considerado como um fator de variação.

A escolha de AT como fator de agrupamento principal foi arbitrária. A mesma consideração poderia ter sido feita para o teor de SS.

As análises foram conduzidas utilizando o MIXED do SAS, considerando as medidas repetidas dos provadores.

A Tabela 2.6 mostra os resultados da análise do modelo de classificação hierárquica considerando as 572 notas (julgamentos) atribuídas à impressão global de caldo de cana padronizado pasteurizado, referente às 11 formulações.

Tabela 2.6 - Resultados da análise do modelo de classificação hierárquica para o teste de formulações de caldo de cana padronizado pasteurizado.

Números de julgamentos	Média de notas para impressão global	Desvio padrão	Coeficiente de variação	Nota mínima da escala	Nota máxima da escala
572	6,5	1,6	25,5	1,0	9,0

A Tabela 2.7 mostra a análise de variância (ANOVA) considerando as fontes de variação AT e SS dentro de AT do modelo de classificação hierárquica.

Tabela 2.7 - Análise de variância para os efeitos das fontes de variação do teste de formulações.

Efeito	Graus de liberdade	Valor de F	p valor > F
AT	4	3,01	0,0189 *
AT (SS)	4	1,67	0,1610 ns

* significativo ($p < 0,05$)

ns : não significativo

A ANOVA na Tabela 2.7 revelou que somente a fonte de variação AT foi significativa a $p < 0,05$; sendo a fonte de variação SS dentro de AT não significativa, no mesmo nível de significância.

Esta análise revelou que o efeito da variação do teor de sólidos solúveis não foi significativo para os provadores na avaliação da impressão global do caldo de cana com diferentes *ratios*.

Para definir a melhor formulação do caldo de cana padronizado foi feita a comparação estatística dos diferentes níveis de AT (Tabela 2.1), apresentada na Tabela 2.8.

Tabela 2.8 - Comparação estatística dos diferentes níveis de AT.

Nível	AT _{teórico} (% ácido cítrico)	Média (impressão global)	Erro padrão
$-\alpha$	0,020	6,3 a	0,23
-1	0,030	6,4 a	0,16
0	0,055	6,2 b	0,12
+1	0,080	6,9 ab	0,16
$+\alpha$	0,090	6,5 a	0,23

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de significância.

Os resultados apresentados na Tabela 2.8 mostram que apenas o nível 0 de AT (0,055 %) diferiu dos demais níveis, exceto do nível +1. Logo, seguindo critérios de processo para a estabilização da bebida, considerou-se que a melhor formulação seria aquela que apresentasse AT 0,09%, por ser esta a acidez mais elevada. O pH da amostra com 0,09% de AT foi equivalente a 3,86; característica que favorece a estabilização microbiológica e enzimática do caldo de cana.

Adotando-se este critério, a formulação 9 (Tabela 2.5) foi eleita, com 0,084% de acidez titulável e 19,4 °Brix.

A proposta inicial para o teste de formulações era utilizar a Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) para estudar o comportamento das variáveis AT e SS frente às médias de notas atribuídas para impressão global das formulações de caldo de cana. No entanto, como já descrito, notou-se que apenas o efeito de AT foi significativo estatisticamente a 5%. Posto isto, a abordagem com a referida metodologia não foi apresentada, visto que os resultados obtidos não contribuíram para a identificação do *ratio* de maior aceitação sensorial.

4 CONCLUSÕES

As formulações de caldo de cana padronizado pasteurizado elaboradas a partir da variação do *ratio* (teor de sólidos solúveis/ acidez titulável) e submetidas ao teste sensorial de escala hedônica alcançaram boa aceitação junto aos provadores, em uma ampla faixa de teor de sólidos solúveis e acidez titulável estudadas.

A análise estatística dos resultados apontou que as médias para impressão global das onze formulações testadas não foram diferentes entre si ($p > 0,05$) e que o teor de sólidos solúveis não teve influência na aceitação sensorial das formulações.

A formulação com 0,09 % de acidez titulável apresentou-se como aquela que melhor atenderia aos aspectos de processo de estabilização da bebida por apresentar maior acidez (pH ~ 3,9).

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Methods of analysis**. 16th ed. Arlington: AOAC, 1997.

CHAVES, J.B.P. Planejamento estatístico de experimentos científicos. **Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa – UFV**, Viçosa, 2005. Disponível em: <<http://www.dta.ufv.br/artigos/planestat.htm>>. Acesso em: 28 de janeiro de 2014.

DANTAS, R. L. et al. Perfil da qualidade de polpas de frutas comercializadas na cidade de Campina Grande/ PB. . **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 5, n. 5, p. 61-66, 2010.

DELGADO, A. A. **A clarificação do caldo de canas despalhadas manualmente e a fogo, em função do tempo de espera para a industrialização**. 1975. 148 f. Tese (Livre Docência) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo – USP, Piracicaba, 1975.

DEMATTE, J. L. I. Modernizada, canicultura é líder em produção. **Visão Agrícola**, Piracicaba, n. 1, p. 60 – 67, 2004.

KANAÍ. Disponível em: <<http://www.kanai.com.br/>>. Acesso em: 19 dezembro 2013.

KUNITAKE, M. T. **Processamento e estabilidade de caldo de cana acidificado**. 2012. 131 f. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos , Universidade de São Paulo, 2012.

LO, W. M. et al. Evaluation of freeze-concentrated sugar-cane juice. **Journal Tropical Agriculture and Food Science**, Kuala Lumpur, v. 35, n.1, p.121-129, 2007.

OLIVEIRA, A. C. G. **Efeitos do processamento térmico e da radiação gama na estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de caldo de cana puro e adicionado de suco de frutas, armazenado sob refrigeração**. 2007. 105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

OLIVEIRA, A. C. G. et al. Percepção dos consumidores sobre o comércio de alimentos de rua e avaliação do teste de mercado do caldo de cana processado e embalado em seis municípios do estado de São Paulo, Brasil. **Revista Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 4, p. 397-403, 2007.

PRADO, S. P. T. et al. Avaliação do perfil microbiológico e microscópico do caldo de cana *in natura* comercializado por ambulantes. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, ed. 69, p. 55-61, 2010.

PRATI, P. **Desenvolvimento de processo para estabilização de caldo de cana adicionado de sucos de frutas ácidas**. 2004. 169 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

PRATI, P.; MORETTI, R. H.; CARDELLO, H. M. A. B. Elaboração de bebida composta por mistura de garapa parcialmente clarificada-estabilizada e sucos de frutas ácidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 147-152, 2005.

SANKHLA, S. et al. Preservation of sugarcane juice using hurdle technology. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 14, n. 1, p. 26–39, 2012.

SILVA, K. S.; **Avaliação de processo de industrialização de caldo de cana-de-açúcar (*Sacharum ssp*) por enchimento a quente e sistema asséptico**. 2004. 111 f. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. Ed. São Paulo: Varela, 2007. 536 p.

SILVA, K.S.; FARIA, J.A.F. Avaliação da qualidade de caldo de cana envasado a quente e por sistema asséptico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 754-758, 2006.

STONE, H.; SIDELL, J. L. **Sensory evaluation practices**. London: Academic Press, 1985. p. 202-226.

YASMIN, A.; MASSOD, S.; ABID, H. Biochemical analysis and sensory evaluation of naturally preserved sugarcane juice. **Pakistan Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, Lahore, v. 3, n. 43, p. 144-145, 2010.

CAPÍTULO 3:

ESTABILIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE QUALIDADE DO CALDO DE CANA PADRONIZADO

RESUMO

A tecnologia de obstáculos é um conceito bastante difundido e aplicado na indústria de alimentos, que garante a produção de alimentos seguros, de alta qualidade e de vida de prateleira estendida. O estudo descrito neste capítulo visou à estabilização e à avaliação físico-química, microbiológica, enzimática e sensorial do caldo de cana padronizado a 19,4 °Brix e 0,084% de acidez. Para este fim, processaram-se três lotes da bebida previamente padronizada em uma planta piloto instalada no Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade São Paulo, no campus de Pirassununga. A estabilização da bebida foi baseada na combinação de métodos térmicos e não térmicos, a saber: acidificação, pasteurização, envase asséptico e estocagem refrigerada. O pH de cada lote foi reduzido a um valor próximo a 4,0 por meio da adição de ácido cítrico e o teor de sólidos solúveis ajustado para a 19,5 °Brix. Em seguida o produto foi pasteurizado a 95 °C / 30 s, resfriado a 10 °C e envasado assepticamente em uma cabina de fluxo de ar unidirecional ISO classe 5, em garrafas de polietileno tereftalato (PET), previamente descontaminadas por ácido peracético 0,05 % (v/v) a 45 °C / 5 s. Cálculos de rendimento e testes físico-químicos, microbiológicos e enzimáticos foram realizados no produto *in natura* e padronizado pasteurizado. Testes de escala hedônica e intenção de compra foram aplicados para avaliar aceitação sensorial do produto final. O rendimento médio obtido na extração do caldo de cana a partir da matéria-prima raspada foi equivalente a 61,7% (m/m). Os valores médios de pH, do teor de sólidos solúveis (SS) e de acidez titulável (AT) do caldo de cana *in natura* foram 5,3; 20,9 e 0,04%, respectivamente. As contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos foram superiores a $4,0 \times 10^4$ UFC/ mL para a bebida *in natura* e $4,7 \times 10^4$ UFC/ mL na bebida padronizada (antes da pasteurização) em cada lote avaliado. Para o caldo de cana padronizado pasteurizado recém-processado, os valores de pH foram inferiores a 4,4. Os teores de SS e AT situaram-se entre 19,5 e 0,09%, respectivamente, como determinado no teste de formulações. As contagens de micro-organismos mesófilos não ultrapassaram 50 UFC/mL e não identificaram-se a presença de coliformes termotolerantes e *Salmonella* nos lotes processados. Os resultados das

análises de peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) do caldo *in natura* mostraram grande variabilidade entre si. Para o caldo processado, as médias de POD e PPO foram de 2,11 U/ mL e 1,03 U/ mL, respectivamente. As análises sensoriais apontaram que o caldo recém-processado teve boa aceitação entre os provadores, sendo a média de notas próximas a 7 (gostei moderadamente), tanto para a aparência quanto para o sabor. A combinação de métodos de processamento foi eficaz na redução da contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos e na redução da atividade enzimática do caldo de cana padronizado pasteurizado e na obtenção de um produto com elevada aceitação sensorial.

Palavras chaves: tecnologia de obstáculos, envase asséptico, garapa.

ABSTRACT

Hurdle technology is a widespread concept in the food industry, which ensures safe food production, high quality and extended shelf-life. The study described in this chapter targeted the stabilization and the physico-chemical, microbiological, enzymatic and sensory evaluation of standardized sugarcane juice at 19.4 °Brix and 0.084% of acidity. Three batches of previously standardized juice were processed in a pilot plant. The juice stabilization was based on the following combination of thermal and non-thermal methods: acidification, pasteurization, aseptic filling and refrigerated storage. In each batch, the pH was reduced to approximately 4.0 by addition of citric acid, and soluble solids adjusted near 19.5 °Brix. Then the product was pasteurized at 95 °C/30 s, cooled at 10 °C and aseptically filled in polyethylene terephthalate (PET) bottles previously decontaminated with peracetic acid 0.05 % (v/v) at 45 °C/5 s. The yield determination and physico-chemical, microbiological, and enzymatic tests were performed in the fresh juice and in the standardized pasteurized product. Hedonic scale tests were carried out to evaluate sensory acceptability of the product. The average yield in the extraction of sugarcane juice from shaved raw material was near 62% (m/m). The mean values of pH, soluble solids (SS) and titratable acidity (TA) of fresh juice were 5.3, 20.9 and 0.04%, respectively. The aerobic mesophilic microorganisms counts were greater than 4.0×10^4 CFU/mL in the fresh and natural juice, and 4.7×10^4 CFU/mL in standardized juice (before pasteurization). The mesophilic counts in processed juice did not exceed 5.0×10 CFU/mL. The presence of coliforms at 45 °C and *Salmonella* was not confirmed. The average peroxidase and polyphenol oxidase activities were 2.11 and 1.03 U/mL, respectively. Sensory analysis showed that the processed juice was well accepted among the panelists, with an average score around 7 ("like moderately"), both for appearance and for flavor. The combination of processing methods were effective in reducing the aerobic mesophilic counts and the enzyme activity of sugarcane juice.

Key words : hurdle technology, aseptic filling, sugarcane juice.

1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda por alimentos de alta qualidade nutricional e sensorial, isentos de aditivos químicos, tem levado a indústria de alimentos a desenvolver e aprimorar as tecnologias de processamento.

Neste sentido, um conceito bem consolidado e amplamente empregado nas plantas de processamento de alimentos é a tecnologia dos obstáculos ou dos processos combinados (LEISTNER; GORRIS, 1995).

Alguns métodos tradicionais de conservação de alimentos que incluem o decréscimo do pH por acidificação com ácidos orgânicos, o tratamento térmico, o envase asséptico, a estocagem refrigerada, entre outros, são aplicados de forma branda, porém em sinergismo, fazendo com que cada um atue sobre um determinado fator de deterioração e de perda de qualidade durante a estocagem (LEVI; GAGEL; JUVEN, 1985; WELTI-CHANES; VERGARA-BALDERAS; LOPEZ-MALO, 2000).

Novas tecnologias, denominadas métodos não convencionais ou emergentes, a exemplo do aquecimento ôhmico, da irradiação (raios gama), separação por membranas, ultrassom, campo elétrico pulsado, pulso de campo magnético de alta intensidade e alta pressão hidrostática (APH), estão sendo estudadas e podem ser combinadas com os métodos tradicionais na estabilização de alimentos e bebidas (KUNITAKE, 2012).

O caldo de cana *in natura* é um produto que tem vida útil bastante limitada devido à rápida deterioração sofrida pela bebida (MAO; XU; QUE; 2007; YUSOF; SHIAN; OSMAN; 2000), que oferece condições nutricionais adequadas à multiplicação de micro-organismos. Além disso, reações de escurecimento são deflagradas por mecanismos de natureza enzimática (polifenoloxidase e peroxidase) e não enzimática (reação de Maillard, caramelização, reações térmicas de degradação e condensação de açúcares) (BUCHELI; ROBINSON, 1994).

Outro aspecto relativo ao caldo de cana é que, no Brasil, a produção desta bebida está associada a precárias condições higiênico-sanitárias (ANDRADE; PORTO; SPOTO, 2008; PRADO et al., 2010). O comércio da garapa é geralmente realizado por ambulantes que não possuem a infraestrutura necessária para a

produção higiênica da bebida. Os equipamentos e utensílios utilizados para a produção do caldo tais como moendas, recipientes para coleta, jarras e peneiras, são frequentemente mal higienizados, atuando como fontes de contaminação cruzada (OLIVEIRA et al., 2006).

Além disso, a pouca ou inexistente capacitação profissional observada entre a maioria dos manipuladores, dedicados em muitas ocasiões a executar múltiplas tarefas, como a extração do produto comercializado, a manipulação do dinheiro e a remoção do lixo, são considerados importantes fatores de risco para a contaminação do caldo de cana (VANZO; AZEVEDO, 2003; OLIVEIRA et al., 2006). Por este motivo, esforços consideráveis têm sido realizados a fim de estabilizar a bebida por meio da sua industrialização (YUSOF; SHIAN; OSMAN; 2000).

Diversas pesquisas têm investigado a aplicação de métodos térmicos (pasteurização, esterilização e branqueamento), associados a métodos não térmicos (acidificação, refrigeração, radiação gama, microfiltração, ultrassom, adição de conservadores químicos, etc) na estabilização de caldo de cana *in natura* ou processado (CALIARI; SOARES JÚNIOR; GOMES, 2004; CHAUHAN et al., 2002; KUNITAKE, 2012; MAO; XU; QUE, 2007; OLIVEIRA, 2007; REZZADORI, 2010; SUZART, 2009).

Os objetivos do estudo descrito neste capítulo consistiram na estabilização, por meio da combinação de acidificação, tratamento térmico, do envase asséptico e da estocagem refrigerada, e na avaliação da qualidade de caldo cana acidificado e padronizado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As análises descritas a seguir foram realizadas para os três lotes de caldo de cana processados nas condições mais uniformes possíveis.

O lote 1 (denominado L1) foi processado no mês de setembro do ano de 2012, o lote 2 (L2) foi processado em março de 2013 e o lote 3 (L3), em agosto do mesmo ano.

Em cada processamento foram realizados cálculos de rendimento, testes físico-químicos e microbiológicos para o produto *in natura*, padronizado e padronizado pasteurizado. Testes de escala hedônica e intenção de compra foram aplicados apenas à bebida pasteurizada.

O fluxograma com as etapas executadas na elaboração do caldo de cana padronizado pasteurizado para os três processamentos realizados é exibido na Figura 3.1.

Figura 3.1 - Fluxograma de produção experimental de caldo de cana padronizado pasteurizado.

As etapas referentes à extração do caldo de cana *in natura* e ao processamento térmico seguiram a mesma metodologia descrita nas sessões 2.1 e 2.2 do Capítulo 2.

2.1 Caracterização físico-química do caldo de cana *in natura*, padronizado e padronizado pasteurizado recém-processado

Os testes físico-químicos foram executados conforme metodologia da Association of Official Analytical Chemists/AOAC (1997). Para a determinação do pH foi utilizado um medidor Analyser modelo 300 M. O teor de sólidos solúveis foi determinado por um refratômetro portátil digital Reichert modelo AR 200. A acidez total titulável foi determinada utilizando-se NaOH 0,1 M; sendo o ponto de viragem aquele onde pH atingiu o valor de 8,3. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.2 Testes microbiológicos do caldo de cana *in natura*, padronizado e padronizado pasteurizado recém-processado

Contagens de mesófilos aeróbios totais no caldo *in natura*, padronizado e recém-processado foram realizadas, utilizando-se a metodologia descrita por Silva et al. (2007). Análises de coliformes e *Salmonella* foram realizadas para assegurar a qualidade higiênico-sanitária do produto.

Para verificar a presença de *Salmonella* foi utilizado o método rápido BAX® System da Du Pont. Os resultados são qualitativos (presença/ausência) e os procedimentos foram realizados de acordo com as orientações do Fabricante.

A análise de coliformes foi realizada por meio de Petrifilm™ 3M, para quantificação de *E.coli* e coliformes termotolerantes, conforme as orientações do fabricante.

Os testes microbiológicos foram conduzidos no Laboratório de Bioprocessos do Departamento de Engenharia de Alimentos da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – FZEA/ USP, em Pirassununga, São Paulo. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.3 Análises enzimáticas do caldo de cana *in natura* e padronizado pasteurizado recém-processado

Para a realização dos testes enzimáticos adotou-se a metodologia, adaptada, descrita por Campos *et al.* (1996), a qual mostrou-se confiável para a determinação da atividade de polifenoloxidase e peroxidase em caldo de cana. Um fluxograma mostrando a referida metodologia é ilustrado na Figura 3.2.

Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Figura 3.2 - Fluxograma de análise de atividades de polifenoloxidase (a) e peroxidase (b) em caldo de cana.

2.4 Análise sensorial do caldo recém-processado

Os testes sensoriais foram realizados conforme procedimento descrito por Stone e Sidell (1985). Utilizou-se o teste de escala hedônica estruturada de nove pontos para avaliação da aparência e do sabor. A intenção de compra da bebida também foi avaliada. Uma equipe de 50 provadores, apreciadores de caldo de cana, com faixa etária média de 22 anos participaram das análises.

Os testes foram conduzidos no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Engenharia de Alimentos da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – FZEA/ USP em Pirassununga/ SP.

A amostra recém-processada (cerca de 40 mL) foi servida a uma temperatura próxima a 12 °C, juntamente com um copo de água e a ficha de avaliação (Apêndice B).

A realização dos testes sensoriais com consumidores foi aprovada pelo comitê de ética da FZEA/ USP.

3 PROCESSAMENTO DE CALDO DE CANA

Definidos o teor de sólidos solúveis (19,4 °Brix) e a acidez titulável (0,084%) no teste de formulações, discutido no Capítulo 2, e tendo estes como parâmetros para a padronização do caldo de cana, foram processados três lotes da bebida, nos períodos mencionados no item 2.

Os resultados das análises do caldo de cana *in natura*, padronizado e processado, para cada um dos três processamentos, estão detalhados e discutidos a seguir.

3.1 Caracterização físico-química da matéria-prima

A Tabela 3.1 mostra os resultados de rendimento e da avaliação físico-química do caldo de cana *in natura*.

Tabela 3.1 - Rendimento e características físico-químicas do caldo de cana *in natura*.

	L1	L2	L3
Rendimento obtido na extração* (%)	60,6	58,7	65,74
pH	5,30 ± 0,01	5,02 ± 0,03	5,55 ± 0,00
Sólidos solúveis (°Brix)	20,5 ± 0,0	21,6 ± 0,1	20,5 ± 0,1
Acidez titulável (% ácido cítrico)	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,00	0,035 ± 0,001

L - Lote.

*em relação à massa de cana raspada.

A Tabela 3.1 mostra que os valores de rendimento, de pH, do teor de sólidos solúveis (SS) e de acidez titulável (AT), dos três lotes processados, foram relativamente próximos. Este resultado mostra que a utilização de um mesmo cultivar de cana-de-açúcar ao longo de todo o estudo possibilitou uma pequena variação das referidas características. Pode-se afirmar que é de particular interesse para a padronização da bebida que as características da matéria prima sofram pequena variação independente da safra e das condições climáticas.

Em estudo realizado por Mao, Xu e Que (2007), o rendimento de caldo de cana extraído a partir de toletes de cana de açúcar após branqueamento foi de $70,83 \pm 2,9\%$, superior àqueles obtidos neste estudo.

Suzart (2009) encontrou valores de rendimento próximos aos descritos na Tabela 3.1 estudando diferentes variedades de cana de açúcar para a produção de caldo de cana. O autor obteve rendimento médio de 53,10%; com valor mínimo de 47,39% (variedade IAC 87-3396) e valor máximo de 58,05% (variedade IAC 91-2205).

Khare et al. (2012) obtiveram 51,8% de rendimento para caldo de cana *in natura*, sendo este valor inferior aos apresentados na Tabela 3.1. No entanto, os

mesmos autores encontraram resultados de pH de 4,35; teor de sólidos solúveis de 19,5 °Brix e 0,128 % de acidez titulável, em caldo de cana *in natura*. Estes valores estão mais próximos das características físico-químicas definidas para caldo de cana padronizado no teste de formulações (Capítulo 2).

Oliveira et al. (2007) investigaram caldo de cana *in natura* e encontraram valores de pH próximos a 5,28; teor de sólidos solúveis de 22,74 °Brix e acidez titulável de 0,04% de ácido cítrico, similares ao mostrados na Tabela 3.1.

As características físico-químicas e valores de rendimento encontrados neste estudo para o caldo de cana *in natura* também estão em concordância com os resultados descritos por Kunitake (2012). A autora obteve rendimento entre 48 e 59%, pH na faixa de 5,1 a 5,4; teor de sólidos solúveis entre 17 e 23,3 °Brix e acidez titulável entre 0,040 – 0,064% de ácido cítrico.

Os resultados apresentados na Tabela 3.1 indicaram que seria necessária a adição de água e ácido cítrico aos três lotes de caldo de cana *in natura*, para padronizar a bebida, uma vez que os valores de SS e AT eleitos no teste de formulações (Capítulo 2) foram 19,4 °Brix e 0,084%. As massas de água e ácido foram calculadas a partir do balanço de massa detalhado na sessão 3 do Capítulo 2 e são exibidas na Tabela 3.2.

Após a adição de água potável e de ácido cítrico realizou-se uma nova leitura do teor de sólidos solúveis e procedeu-se à determinação da acidez para certificar-se da eficácia do procedimento de padronização.

Tabela 3.2 - Massas (Kg) dos componentes adicionadas na etapa de padronização em relação à massa total de caldo de cana *in natura* extraída.

Componente	L1	L2	L3
Água	10,5	8,2	5,3
Ácido cítrico	0,05	0,06	0,06

L – Lote de matéria-prima processado.

3.2 Caracterização microbiológica do caldo de cana *in natura* padronizado antes da pasteurização

A Tabela 3.3 apresenta os resultados dos testes microbiológicos realizados em amostras do caldo de cana *in natura* e da bebida padronizada antes da pasteurização.

Observou-se neste experimento que a garapa *in natura* apresentou elevada contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos, apesar da etapa de descontaminação da matéria-prima, por imersão em água clorada contendo 50 mg/L de cloro residual livre (CLR), durante 30 min, a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

A cana de açúcar contém, naturalmente, uma elevada população microbiana em seus colmos, raízes e folhas (KITOKO et al., 2004; MELO et al., 2007), podendo conter entre 10^1 a 10^8 colônias de bactérias por grama de colmo e 10^1 a 10^3 colônias de fungos (DUCAN e COLMER, 1964).

Tabela 3.3 - Contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos em caldo de cana *in natura* e padronizado antes da pasteurização (UFC/mL).

	L1	L2	L3
Caldo <i>in natura</i>	$4,0 \times 10^4 \pm 2,0 \times 10^2$	$7,8 \times 10^3 \pm 2,0 \times 10^2$	$7,2 \times 10^3 \pm 58,7 \times 10^2$
Caldo padronizado	$2,3 \times 10^4 \pm 4,5 \times 10^2$	$4,7 \times 10^4 \pm 4,5 \times 10^2$	$4,0 \times 10^3 \pm 1,4 \times 10^2$

L – Lote.

A Tabela 3.3 mostra que a etapa de padronização teve pouca influência na quantificação da população de mesófilos em relação ao caldo de cana *in natura*, nos três lotes. O aumento na contagem de micro-organismos em L2 para o caldo padronizado pode ter sido influenciado pelo tempo de espera necessário para a separação dos ingredientes (ácido cítrico e açúcar) na etapa de padronização.

Além disso, comparando-se os lotes processados entre si, nota-se que as contagens de micro-organismos mesófilos também não sofreram grande variação, tanto na condição do caldo *in natura* quanto para o caldo padronizado. Tal

resultado pode estar associado à uniformidade da etapa de descontaminação da matéria prima.

Em estudos de Kunitake (2012), Suzart (2009) e Prati (2004), caldo de cana *in natura* apresentou contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos de $6,6 \times 10^4$; $6,5 \times 10^6$ e $3,6 \times 10^5$ UFC/ mL, respectivamente; superiores aos exibidos na Tabela 3.3.

3.3 Avaliação de qualidade da bebida recém-processada

Realizada a etapa de padronização, o caldo de cana foi imediatamente pasteurizado, de acordo com o fluxograma de processamento ilustrado pela Figura 3.1.

Os lotes, processados em diferentes períodos, foram fracionados e as frações estocadas a 12, 8, 4 e -18°C (controle) em câmaras tipo BOD, para estudo de vida de prateleira, descrito no capítulo seguinte.

As amostras estocadas a - 18°C para controle foram utilizadas unicamente para as avaliações sensoriais do caldo de cana para a análise de vida de prateleira a ser discutida no Capítulo 4.

Os resultados das análises de qualidade do caldo de cana após o processamento serão apresentados a seguir.

As avaliações no tempo zero (t_0) referem-se àquelas realizadas antes de submeter o caldo de cana padronizado pasteurizado a qualquer uma das temperaturas anteriormente citadas.

3.3.1 Testes microbiológicos

Os resultados das análises microbiológicas referentes à t_0 para os lotes 1, 2 e 3 de caldo de cana processado são apresentados na Tabela 3.4.

A quantificação de micro-organismos mesófilos no caldo de cana processado, em t_0 , teve a finalidade de verificar o impacto do tratamento térmico (95 °C/30 s) na população microbiana do caldo *in natura*.

Tabela 3.4 - Resultados das análises microbiológicas referentes ao tempo zero (t_0) de produção de caldo de cana padronizado pasteurizado para os três lotes processados.

	L1	L2	L3
Mesófilos (UFC/ mL)	< 1,0	50	< 1,0
<i>Salmonella sp</i> (UFC/ 25 mL)	Ausência	Ausência	Ausência
Coliformes termotolerantes (NMP/ mL)	Ausência	Ausência	Ausência

A Tabela 3.4 mostra que a população de mesófilos, após a pasteurização, foi consideravelmente reduzida, evidenciando a eficácia do tratamento térmico empregado. Os valores de redução decimal (RD) atingidos, comparando-se a bebida pasteurizada com o caldo *in natura*, foram 3,2 RD, para L2 e superiores a 4,6 e 3,9 RD; para L1 e L3, respectivamente.

A análise de *Salmonella sp* evidenciou a ausência deste micro-organismo em 25 mL do caldo padronizado pasteurizado para os lotes 1, 2 e 3. Não houve desenvolvimento de coliformes termotolerantes na bebida.

Em estudo de Kunitake (2012), a contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos foi de $7,4 \times 10^1$ UFC/ mL em caldo de cana acidificado recém-pasteurizado a 95 °C/ 30 s, níveis estes mais elevados que os exibidos na Tabela 3.4. O mesmo estudo apontou valores de coliformes termotolerantes < 3,0 NMP/ mL e ausência de *Salmonella sp* em 25 mL da bebida processada.

Suzart (2009) avaliou a estabilidade microbiológica de caldo de cana adicionado de dimetil dicarbonato, agente de controle de micro-organismos para a conservação de bebidas com pH entre 2,0 e 4,2. A bebida foi pasteurizada a 90

°C/ 40 s e a contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos foi de $4,5 \times 10^3$ UFC/mL.

A Legislação Brasileira não estabelece limites para contagem de bactérias e fungos psicrótrópicos em caldo de cana. Contudo, a Resolução RDC 12 de 2001, da ANVISA, fixa padrões microbiológicos para caldo de cana pasteurizado e refrigerado. Segundo esta Resolução, a contagem de coliformes a 45 °C não deve ultrapassar 10 NMP/mL. Células de *Salmonella* devem estar ausentes em 25 mL de produto. Sendo assim, os resultados obtidos nos três lotes processados evidenciam a segurança do produto.

3.3.2 Testes físico-químicos

Os resultados das análises físico-químicas dos lotes de caldo de cana recém- processado estão apresentados na Tabela 3.5.

Tabela 3.5 - Resultados das análises físico-químicas referentes ao tempo zero (t_0) de produção de caldo de cana padronizado pasteurizado.

	L1	L2	L3
pH	$3,86 \pm 0,01$	$3,27 \pm 0,04$	$4,40 \pm 0,00$
Teor de sólidos solúveis (°Brix)	$19,5 \pm 0,0$	$19,4 \pm 0,2$	$19,5 \pm 0,0$
Acidez titulável (%m/v ácido cítrico)	$0,090 \pm 0,00$	$0,103 \pm 0,006$	$0,085 \pm 0,001$

L – Lote.

A padronização do caldo de cana, com adição de água e ácido cítrico, resultou na acidificação da bebida a valores de pH inferiores a 4,5; classificando-a como uma bebida acidificada, favorecendo assim a sua estabilização microbiológica e enzimática, uma vez que o sistema PPO tem atividade ótima em pH próximo à 7,2 (YON; JAAFAR, 1994). Além disso, o ácido cítrico complexa com o cobre (Cu^{2+}), presente no sítio ativo da polifenoloxidase, responsável pelo escurecimento enzimático do caldo (KUNITAKE, 2012).

Yasmin, Massod e Abid (2010), em estudo de caldo de cana acidificado com ácido cítrico, pasteurizado a 90 °C/ 5 min, obtiveram valores de pH 4,3; com 21,2 °Brix e 0,63% de acidez.

Mao, Xu e Que (2007), estudaram a qualidade de caldo de cana, após branqueamento da matéria-prima, adicionado de 0,1% de ácido ascórbico, encontrando pH próximo a 4,5 e acidez de 0,3%.

Silva e Faria (2006) estudaram o processamento de caldo de cana em escala piloto, envasado em garrafas de vidro, a quente e assepticamente (em sala limpa). Avaliou-se a qualidade do caldo produzido pelos dois processos e estocado a temperatura ambiente. No primeiro lote de bebida processada envasada assepticamente, os autores obtiveram valores de pH de 4,2, 19°Brix e 0,18% de acidez. No segundo lote de bebida processada envasada assepticamente e na bebida envasada à quente, os valores foram os próximos, sendo eles: pH 4,15, 20°Brix e 0,17% de acidez. Tais resultados apontam que a acidez foi a única variável que diferiu mais expressivamente dos resultados apresentados na Tabela 3.5.

3.4 Avaliação da atividade enzimática

A Tabela 3.6 mostra os resultados das análises de atividade de peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) realizadas no caldo de cana *in natura* e recém-processado.

Tabela 3.6 - Atividade (U/mL) de polifenoloxidase e peroxidase em caldo de cana.

Lote	Enzima	Caldo <i>in natura</i>	Bebida processada	% de redução
L1	PPO	40,57 ± 1,02	0,26 ± 0,31	99,36
	POD	148,56 ± 3,55	1,62 ± 0,59	98,91
L2	PPO	3,70 ± 2,03	2,12 ± 0,07	42,70
	POD	63,20 ± 4,90	3,13 ± 0,19	95,05
L3	PPO	5,62 ± 1,01	0,71 ± 0,30	87,37
	POD	3,35 ± 4,73	1,59 ± 0,36	52,54

Pela Tabela 3.6, nota-se que no primeiro lote (L1) de caldo de cana processado o tratamento térmico empregado (pasteurização a 95 °C/ 30s), associado à acidificação do caldo de cana na etapa de padronização, resultou na inativação praticamente completa da PPO.

Para L2 a atividade da PPO para o caldo recém-processado, em relação à atividade encontrada no caldo *in natura*, teve uma pequena redução (42,70%), mesmo após a bebida ser submetida ao tratamento térmico.

É importante considerar que as variações inerentes às diferentes safras e condições climáticas pode ter tido influência na variabilidade da atividade enzimática.

A termosensibilidade da PPO pode ser comprovada apenas para os lotes 1 e 3, nos quais os percentuais de redução foram de 99,37% e 87,37%, respectivamente.

Em relação à POD, verificou-se uma atividade remanescente na bebida pasteurizada em L1, L2 e L3, o que pode ter favorecido a redução da estabilidade sensorial do produto, a ser discutida no próximo capítulo. Esta atividade remanescente pode estar associada ao maior valor de pH para L3, como pode ser observado na Tabela 3.5.

Em L1 e L2 a redução da atividade da POD foram expressivas, 98,91% e 95,05%, respectivamente. Em L3, porém, esta enzima apresentou termorresistência com redução de apenas 52,54%.

A cor escura adquirida pelo caldo de cana em pouco tempo após sua extração está associada à presença de compostos fenólicos, os quais podem reagir com o oxigênio (BUCHELI; ROBINSON, 1994). Porém, a atividade enzimática

elevada no produto pode acelerar seu escurecimento, o que é desfavorável em termos de aceitação da bebida. Este fato justifica a importância da inativação enzimática do caldo de cana por meio do processamento térmico. No entanto, há uma perda de cor em bebidas com PPO inativa, sugerindo que o escurecimento também pode estar relacionado à degradação de clorofila (MAO; XU; QUE; 2007).

Segundo Bucheli e Robinson (1994), a polifenoloxidase é a principal enzima responsável pelo escurecimento do caldo de cana. Porém, a peroxidase também apresenta atividade na bebida e é termorresistente. Sendo assim, é, teoricamente, possível a aplicação de um tratamento térmico mais brando, visto que a PPO é uma enzima relativamente termossensível.

A despeito da atividade da PPO ter sido menor em relação à POD, Bucheli e Robinson (1994) e Qudsieh et al. (2002) descrevem que a PPO na cana-de-açúcar utiliza um limitado número de compostos fenólicos, sendo o ácido clorogênico o substrato com maior especificidade para esta enzima. Logo, é provável que a PPO estivesse presente em níveis superiores aos encontrados no ensaio, uma vez que o substrato fenólico utilizado neste estudo foi o catecol (Figura 3.2).

Mao, Xu e Que (2007) identificaram a inativação da PPO em caldo de cana fresco acidificado refrigerado durante o tempo de estocagem, após branqueamento da matéria-prima.

Silva (2004) encontrou atividade de 44 U/mL para POD e 25 U/mL para PPO no caldo de cana *in natura*. Para a bebida processada a 110 °C/ 10 s, a PPO e a POD foram completamente inativadas.

Posto isto, os resultados da Tabela 3.6 sugerem que o binômio tempo x temperatura empregado neste estudo (95°C/ 30 s) não foi completamente efetivo na inativação das enzimas PPO e POD em caldo de cana. Condições de tratamento térmico mais severas não foram investigadas em virtude de limitações operacionais impostas pelo trocador de calor disponível para a pesquisa.

3.5 Avaliação sensorial

A Tabela 3.7 mostra os resultados dos testes sensoriais dos lotes 1, 2 e 3 para o caldo recém-processado.

Tabela 3.7 – Médias de notas dos testes sensoriais referentes ao tempo zero (t_0) de produção de caldo de cana padronizado pasteurizado para os três lotes processados.

Atributo	L1	L2	L3
(média $\pm$ desvio-padrão / %aceitação ¹)			
Aparência	7,0 a $\pm$ 1,4 / 86	7,0 a $\pm$ 1,4/ 94	7,2 a $\pm$ 1,5/ 94
Sabor	6,5 b $\pm$ 1,8 / 76	7,1 ab $\pm$ 1,5/ 92	7,3 a $\pm$ 1,6/ 94

L – lote

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de significância.

1 – percentual de notas superiores a 5.

Os resultados apresentados na Tabela 3.7 revelam que a bebida recém-processada teve uma boa aceitação sensorial pelos provadores, tanto em termos de aparência quanto em termos de sabor. As médias de notas foram próximas a 7 (gostei moderadamente) para ambos atributos.

A comparação estatística entre as médias de notas para a aparência não apresentaram diferença estatística significativa entre si ($p < 0,05$). No entanto, para o atributo sabor, as amostras dos lotes 1 e 3 apresentaram diferença estatística entre si ($p < 0,05$).

Oliveira (2007) obteve médias de 6,5 e 7,0, para os atributos aparência e sabor, respectivamente, na análise sensorial de caldo de cana acidificado e pasteurizado a 70 °C/ 25 min. As médias encontradas pela autora concordam com as encontradas no presente estudo.

Os maiores percentuais de respostas nos testes de intenção de compra foram “talvez compraria” (44 % das avaliações) para L1; “provavelmente compraria” (46 % das avaliações) para L2 e “provavelmente compraria” (44 % das avaliações) para L3, evidenciando que o caldo recém-processado foi bem aceito pela equipe de provadores.

4 CONCLUSÃO

A combinação de tecnologias aplicadas ao caldo de cana revelou-se promissora para pequenas escalas de produção e eficiente, no que tange à redução da contagem microbiana e à redução da atividade enzimática, além de resultar na obtenção de uma bebida com elevada aceitação sensorial e positiva intenção de compra.

A enzima peroxidase apresentou-se como mais termorresistente nos lotes 1 e 3, não sendo inativada em nenhum dos lotes processados. Houve pouca variação no rendimento e nas características físico-químicas dos lotes de caldo de cana *in natura*, ressaltando a importância da utilização de um mesmo cultivar de matéria-prima ao longo de todo o estudo, embora esta prática não seja sempre possível no ambiente industrial.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, S. R. R.; PORTO, E.; SPOTO, M. H. F. Avaliação da qualidade do caldo extraído de toletes de cana-de-açúcar minimamente processada, armazenados sob diferentes temperaturas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, supl., p. 51-55, 2008.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Methods of analysis**. 16th ed. Arlington: AOAC, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução – RDC n.º 12, de 2 de janeiro de 2001**: regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm#>. Acesso em: 07 dez. 2013.

BUCHELI, C. S.; ROBINSON, S. P. Contribution of enzymatic browning to color in sugarcane juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 42, n. 2, p. 257-261, 1994.

CALIARI, M.; SOARES JÚNIOR, M. S.; GOMES, R. J. C. Efeito de ondas ultra-sônicas sobre a população de *Leuconostoc mesenteroides* em caldo de cana de açúcar. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiás, v. 34; n. 3, p. 139-146, 2004.

CHAUHAN, O. P. et al. Studies on preservation of sugarcane juice. **International Journal of Food Properties**, Philadelphia, v. 5, n.1, p. 217–229, 2002.

CAMPOS, C. F. et al. Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor of green coconut water. **Journal of Food Processing and Preservation**, Hoboken, v. 20, p. 487-500, 1996.

KHARE, A. et al.. Shelf life enhancement of sugarcane juice. **Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition**, Zagreb, v. 7, n. 3-4, p. 179-183, 2012.

KITOKO, P. M. et al. Avaliação microbiológica do caldo de cana comercializado em Vitória. **Higiene Alimentar**, Espírito Santo, v. 18, n. 119, p. 73-77, 2004.

KUNITAKE, M. T. **Processamento e estabilidade de caldo de cana acidificado**. 2012. 131 f. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, 2012.

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.

MAO, L. C.; XU, Y. Q.; QUE, F. Maintaining the quality of sugarcane juice with blanching and ascorbic acid. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 104, p. 740–745, 2007.

MELO, M. A. F. et al. Avaliação microbiológica de caldos de cana comercializados na cidade de Ponta Grossa, PR. In: SEMANA DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS DA UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ, 5., 2007, Ponta Grossa. **Anais...** Ponta Grossa: UTFPR, 2007. v. 02, n. 1.

OLIVEIRA, A. C. G. et al. Percepção dos consumidores sobre o comércio de alimentos de rua e avaliação do teste de mercado do caldo de cana processado e embalado em seis municípios do estado de São Paulo, Brasil. **Revista Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 4, p. 397-403, 2007.

OLIVEIRA, A. C. G. et al. Análise das condições do comércio de caldo de cana em vias públicas de municípios paulistas. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 13, p. 6-18, 2006.

OLIVEIRA, A. C. G. **Efeitos do processamento térmico e da radiação gama na estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de caldo de cana puro e adicionado de suco de frutas, armazenado sob refrigeração**. 2007. 105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

PRADO, S. P. T. et al. Avaliação do perfil microbiológico e microscópico do caldo de cana *in natura* comercializado por ambulantes. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, ed. 69, p. 55-61, 2010.

QUDSIEH, H. Y. M. et al. Effect of maturity on chlorophyll, tannin, color and polyphenol oxidase (PPO) activity of sugarcane juice (*Saccharum officinarum* var. yellow cane). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 6, p. 1615-1618, 2002.

REZZADORI, K. **Pasteurização térmica e com membranas de caldo de cana adicionado de suco de maracujá**. 2010. 161 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM INDUSTRIAL (SENAI); SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS (SEBRAE). **Elementos de apoio para o sistema APPCC**. Brasília: SENAI, SEBRAE, 1999. 371 p.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. 536 p.

SUZART, C. A. G. **Desenvolvimento de tecnologia para estabilização física, sensorial e microbiológica de caldo de cana**. 2009. 138 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

VANZO, S. P.; AZEVEDO, R. V. P. Detecção de *S. aureus* em manipuladores de alimentos: perfil de resistência a antibióticos e quimioterápicos. **Higiene Alimentar**, Mirandópolis, v. 17, p.114-123, 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.

YON, R. M.; JAAFAR, M. Y. Effect of low temperatures on storage life and quality of carambola (*Averrhoa carambola* L.) cv. B 17. **ACIAR Proceedings**, Canberra, v. 50, n. 1, p. 396-401, 1994.

YUSOF, S.; SHIAN, L. S.; OSAMAN, A. Changes in quality of sugarcane juice upon delayed extraction and storage. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 68, p. 395–401, 2000.

CAPÍTULO 4:

ANÁLISE DE VIDA DE PRATELEIRA DE CALDO DE CANA PADRONIZADO E PASTEURIZADO

RESUMO

O tempo de vida útil do caldo de cana *in natura* é bastante limitado, em virtude das elevadas taxas de reações de natureza microbiológica e enzimática. Por esta razão, o caldo de cana deve ser submetido a tecnologias de estabilização que promovam o aumento da sua vida de prateleira (VP), quando a bebida não é consumida logo após a sua extração. O presente capítulo apresenta os resultados do estudo que teve por objetivo estimar a vida de prateleira de caldo de cana padronizado, pasteurizado, envasado assepticamente em garrafas plásticas e estocado em condições ideais, comerciais e abusivas de temperatura. Para este fim, foram processados três lotes de caldo de cana em uma planta piloto instalada no Departamento de Engenharia de Alimentos da USP. Cada lote processado foi fracionado em quatro partes, estocadas a 4, 8, 12 e -18 °C (controle), na ausência de luz. Realizaram-se testes físico-químicos, microbiológicos e sensoriais para estimar a vida útil do produto, em cada temperatura de estocagem. Contagens de bactérias e fungos psicotróficos equivalentes a 10^4 e 10^3 UFC/mL, respectivamente, foram estabelecidas como níveis máximos aceitáveis. Testes de escala hedônica de nove pontos foram aplicados a uma equipe de cinquenta provadores que avaliou a aparência e o sabor do caldo de cana processado. Médias de notas superiores a 5 e porcentagens de aceitação superiores a 60% foram adotadas como valores-limite para os atributos avaliados. Os tempos médios de VP estimados para a bebida estocada a 4, 8 e 12 °C foram equivalentes a 71, 74 e 23 dias, respectivamente, sendo que as médias de VP a 4 e 8 °C não diferiram entre si a 5% de significância. Concluiu-se que a depreciação sensorial da bebida e a presença de sedimentos sólidos (supostamente gomas) limitou a VP do produto e que as temperaturas de 4 e 8 °C mostraram-se efetivas na manutenção de um nível de qualidade aceitável por um período compatível com a demanda do mercado consumidor.

Palavras chaves: vida de prateleira, garapa, estocagem refrigerada.

ABSTRACT

The shelf-life (SL) of fresh sugarcane juice is quite limited because of the high rates of microbial and enzymatic reactions. For this reason, the juice should be submitted to stabilization technologies that promote its SL extension. This chapter presents the results of the study which was performed to estimate the SL of standardized pasteurized sugarcane juice, aseptically packaged in plastic bottles and stored under ideal, commercial and abusive temperature conditions. Three batches of sugarcane juice were processed in a pilot plant installed at the Department of Food Engineering at University of São Paulo/SP. Each batch was divided into four parts, stored at 4, 8, 12 and -18 °C (control); were then kept in the dark. Physico-chemical, microbiological and sensory tests were carried out to estimate the SL of the product in each storage temperature. Bacteria and fungi psychrotrophic counts equivalent to 10^4 and 10^3 CFU/mL, respectively, were established as maximum acceptable levels. Nine-point hedonic scale tests were applied to a team of fifty panelists who evaluated the appearance and the flavor of processed sugarcane juice. Averages of above 5 points and percentages of acceptance of above 60% were adopted as limit values for estimating the sensory stability. The average SL of juice stored at 4, 8 and 12 °C were 71, 74 and 21 days, respectively. It was concluded that the sensory quality decrease and the presence of solid sediments limited the product's SL. The temperatures of 4 and 8 °C proved to be effective in maintaining an acceptable level of quality for a period compatible with the consumer market demand.

Key words: shelf-life, sugarcane juice, refrigerated storage.

1 INTRODUÇÃO

Segundo Fu e Labuza (1993), a vida de prateleira de um alimento é o período de tempo em que o produto permanece aceitável, sob perspectivas nutricionais, sensoriais ou/ e de segurança microbiológica.

A vida de prateleira, também denominada vida útil, pode ser definida como o tempo em que o alimento pode ser conservado, em condições bem definidas de temperatura, umidade relativa, composição gasosa, incidência de luz etc; sendo sua qualidade mantida a um nível aceitável pelo consumidor, pelo processador e pela legislação alimentar vigente.

A expansão comercial de um produto alimentício é influenciada pela vida útil do mesmo, pois o consumo do alimento não se dá imediatamente após a sua produção. Nos sucos de fruta é importante que os agentes potencialmente patogênicos sejam destruídos, que a população de deteriorantes seja reduzida ou eliminada e que a inativação enzimática seja alcançada para que a bebida tenha uma vida útil satisfatória. Estes critérios podem ser satisfeitos por meio da incorporação de aditivos químicos, da acidificação, da refrigeração, do congelamento, ou por tratamentos térmicos brandos como a pasteurização do produto (ALVES; GARCIA, 1993; MAO; XU; QUE; 2007).

Uma vez controlados os aspectos microbiológicos e enzimáticos, a estabilidade dos sucos de frutas, entre os quais se insere o caldo de cana, está relacionada com a ocorrência de reações químicas complexas que comprometem suas qualidades sensoriais (aroma, sabor, cor, consistência, estabilidade da turbidez, separação das fases sólida-líquida, etc.) e que também acarretam perdas nutricionais (ALVES; GARCIA, 1993).

A vida útil do caldo de cana é bastante afetada pelas características intrínsecas da bebida, pois esta apresenta-se como um meio favorável ao desenvolvimento microbiano devido à sua baixa acidez (pH 5,0 – 5,5), elevada atividade água (0,98 – 0,99) e composição rica em açúcares. Além disso, a bebida sofre uma rápida alteração na cor devido às reações de ordem enzimática e não enzimática, como mencionado nos capítulos anteriores. A deterioração microbiológica do caldo de cana pode ser acelerada se as condições de estocagem

forem abusivas, ocorrendo variações significativas na acidez titulável, no pH e no teor de gomas, resultado da ação de bactérias, bolores e leveduras que têm habilidade de transformar açúcares em ácidos e gomas (OLIVEIRA, 2007).

Segundo o Institute of Food Science and Technology - IFST (1993), o tempo de vida útil de um produto é basicamente determinado por meio de testes físico-químicos, enzimáticos, microbiológicos e sensoriais. Neste sentido, para estudos de vida de prateleira de caldo de cana, a análise sensorial tem se mostrado como uma técnica usual no monitoramento da qualidade do produto durante a estocagem.

Prati (2004), estudando a vida útil de caldo de cana adicionado de 5% de suco de maracujá, observou que a nota média para a cor, sabor e impressão global da bebida processada diminuiu significativamente durante o período de 30 dias de estocagem refrigerada, variando entre 7,3 e 6,7; 7,8 e 7,3 e 7,7 e 7,4; respectivamente, utilizando escala hedônica não estruturada de 9 pontos.

Oliveira (2007) avaliou a vida útil de caldo de cana adicionado de 4% de suco de limão após a bebida ser submetida à três diferentes tratamentos, acondicionando o produto em garrafas de polietileno de alta densidade e estocando sob refrigeração. Os tratamentos aplicados foram radiação gama, pasteurização combinada com radiação gama e apenas pasteurização, sendo que cada tratamento preservou a qualidade sensorial da bebida durante 28, 35 e 42 dias, respectivamente, após o processamento. A autora utilizou teste de escala hedônica estruturada de 9 pontos para a determinação da vida útil em cada tratamento.

O critério adotado para definir o término da vida de prateleira de um alimento pode ser o aumento ou a diminuição na magnitude do valor médio de uma característica sensorial do produto, podendo ser usados os métodos sensoriais de diferença, descritivos e afetivos (MORI, 2002; HOUGH; 2010). Critérios complementares podem ser associados aos resultados dos testes sensoriais para a estimativa da vida de prateleira.

O *ratio* (razão entre o teor de sólidos solúveis e a acidez titulável) pode ser um importante critério complementar na determinação da vida de prateleira (VP) de sucos de frutas ácidas. Se a relação açúcar/ácido diminui ao longo do tempo, o produto pode perder qualidade sensorial (AKED; 2000).

Em relação aos critérios microbiológicos, a resolução RDC 12 de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA apresenta os padrões microbiológicos para caldo de

cana (puro) pasteurizado e refrigerado, segundo os quais a contagem de coliformes a 45 °C não deve ultrapassar 10 NMP/mL. A mesma resolução estabelece a ausência de *Salmonella sp* em 25 mL de amostra. Outros grupos de micro-organismos não estão incluídos na referida RDC.

Destaca-se que a literatura científica apresenta alternativas para o processamento de caldo de cana com a finalidade de estender o seu tempo de vida útil.

Suzart (2009) relatou em seu estudo que duas formulações de caldo de cana, uma sem e outra contendo 4% de suco de limão, submetidas à pasteurização (90 °C/ 40 s), combinada com dimetilcarbonato (200 mg/L), acondicionadas em garrafas de PET e armazenadas a 10 °C mantiveram ambas qualidade sensorial satisfatória durante 75 dias, após o processamento.

Khare et al. (2012) processaram caldo de cana a fim de reduzir a sua taxa de deterioração e aumentar a sua vida de prateleira. Para este fim, utilizaram-se diferentes combinações de metabissulfito de potássio (150, 175, 200 e 225 mg/L), suco de limão (2,5 – 3,0 %), sal (1,0 -1,5 %) e extrato de gengibre (0,5 – 0,7 %). Diferentes binômios foram testados na pasteurização: 60, 75 e 90°C / 10 min, sendo o produto estocado sob refrigeração. Os autores uma bebida de boa qualidade com VP de até 60 dias.

O presente capítulo apresenta os resultados do estudo que teve por objetivo estimar a vida de prateleira de caldo de cana padronizado, pasteurizado, envasado assepticamente em garrafas plásticas e estocado em condições ideais, comerciais e abusivas de temperatura.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Após o processamento do caldo de cana, descrito no Capítulo 3, a bebida foi envasada assepticamente em garrafas plásticas, na planta piloto, e transportadas em caixas isotérmicas para o Laboratório de Tecnologia de Sistemas de Embalagem do Departamento de Engenharia de Alimentos da FZEA/USP.

Cada um dos três lotes processados (denominados L1, L2 e L3) foi fracionado em quatro partes, estocadas em câmaras do tipo BOD a 4, 8, 12 e -18°C, na ausência de luz. As mostras congeladas foram utilizadas como controle nos testes sensoriais.

2.1 Caracterização físico-química do caldo de cana padronizado pasteurizado estocado sob refrigeração

Os testes físico-químicos foram executados conforme metodologia da Association of Official Analytical Chemists/AOAC (1997). Para a determinação do pH foi utilizado um medidor Analyser modelo 300 M. O teor de sólidos solúveis foi determinado por meio de um refratômetro portátil digital Reichert modelo AR 200. A acidez total titulável foi determinada utilizando-se NaOH 0,1 M; sendo o ponto de viragem aquele onde o pH atingiu o valor de 8,3. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.2 Testes microbiológicos e sensoriais para estimativa da vida de prateleira

A frequência de realização das análises para o estudo da VP foi variável para as diferentes temperaturas de estocagem (12, 8, 4°C), assumindo-se que quanto maior a temperatura, mais acelerada é a taxa de degradação do produto, na faixa estudada. Ademais, ajustou-se a frequência de análises para os lotes 2 e 3, baseando-se nos resultados obtidos para o lote 1.

Utilizou-se como referência a metodologia descrita pela American Society for Testing of Materials (ASTM) E2454 – 05, que propõe a aplicação de testes sensoriais para estimativa de VP.

As avaliações no tempo zero do estudo referem-se àquelas realizadas no caldo recém-processado.

2.2.1 Avaliação microbiológica

Como critérios para estudar a estabilidade microbiológica adotaram-se contagens máximas de bactérias e fungos psicrotróficos equivalentes a 10^4 e 10^3 UFC/mL, respectivamente.

Contagens de bactérias e de fungos psicrotróficos foram feitas em meio de cultura *Plate Count Agar* (PCA) e em *Potato Dextrose Agar* (PDA) acidificado com ácido tartárico (10%*m/v*), respectivamente.

As placas foram incubadas a $7 \pm 1^\circ\text{C}$ por 10 dias, procedendo-se à contagem do número de unidades formadoras de colônia e expressando-se os resultados como UFC/mL da bebida. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.2.2 Análise sensorial

Os testes sensoriais aplicados seguiram a metodologia descrita por Stone e Sidell (1985). A análise do caldo de cana processado baseou-se no teste de escala hedônica estruturada de nove pontos para avaliar a aparência e o sabor. Testes de intenção de compra complementaram a análise sensorial. Uma equipe de 50 provadores, apreciadores de caldo de cana, com faixa etária média de 22 anos avaliaram a bebida.

Os testes foram conduzidos no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Engenharia de Alimentos da FZEA/USP.

As amostras foram servidas monadicamente (cerca de 40 mL) a uma temperatura próxima a 12°C, juntamente com um copo de água e a ficha de avaliação (Apêndice B).

A estabilidade sensorial do produto, em todos os lotes processados e para todas as temperaturas estudadas, foi determinada adotando-se o valor 5 (nem gostei/nem desgostei) na escala de 9 pontos como nota de corte. Como critério complementar, estabeleceu-se uma porcentagem de aceitação superior a 60%, para definir o término da estabilidade do produto.

A realização dos testes sensoriais com consumidores foi aprovada pelo comitê de ética da FZEA/ USP.

2.3 Análise estatística dos resultados

Os resultados foram submetidos à análise de variância, com 95% de confiança, para comparação entre as médias das notas atribuídas à aparência e sabor para as amostras estocadas a diferentes temperaturas ao longo do tempo. As médias de notas da amostra avaliada foram comparadas estatisticamente com a média de notas para o controle, para cada atributo, em cada tempo de análise. Os dados foram analisados por meio do programa SAS 9.2.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na avaliação de cada um dos três lotes processados estão divididos por análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais, para as temperaturas de 4, 8, e 12°C. Os dados estão detalhados e discutidos nas próximas sessões.

3.1 Análises físico-químicas de caldo de cana padronizado pasteurizado estocado sob refrigeração

As análises de pH, de acidez titulável (AT) e de sólidos solúveis (SS) foram conduzidas a fim de se avaliar/mensurar eventuais variações ao longo do tempo de estocagem a 4, 8 e 12°C.

Macedo (2001) afirma que a acidez titulável e o pH em determinados alimentos, são indicativos do seu grau de deterioração; ou seja; fornecem dados importantes para apreciação do estado de conservação de um produto.

As análises físico-químicas foram interrompidas quando as amostras atingiram o critério de corte, estabelecido nos testes sensoriais.

3.1.1 Análises físico-químicas das amostras estocadas 4°C

Os resultados das determinações de pH, AT e SS em amostras dos três lotes estocadas a 4°C são apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Resultados dos testes físico-químicos de caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 4°C.

Tempo de estocagem (dias)	pH	Acidez (g ácido cítrico/100 mL)	Sólidos solúveis (°Brix)
L1			
0	3,86 d $\pm$ 0,01	0,090 c $\pm$ 0,00	19,5 d $\pm$ 0,0
28	4,02 a $\pm$ 0,00	0,093 b $\pm$ 0,00	19,9 b $\pm$ 0,0
42	3,97 b $\pm$ 0,01	0,094 a $\pm$ 0,02	19,7 c $\pm$ 0,0
56	3,96 c $\pm$ 0,01	0,093 b $\pm$ 0,01	20,0 a $\pm$ 0,1
L2			
0	3,27 d $\pm$ 0,04	0,103 b $\pm$ 0,006	19,4 ab $\pm$ 0,2
28	3,89 a $\pm$ 0,01	0,110 ab $\pm$ 0,000	19,5 ab $\pm$ 0,1
42	3,85 abc $\pm$ 0,00	0,108 ab $\pm$ 0,000	19,4 ab $\pm$ 0,2
49	3,82 bc $\pm$ 0,02	0,108 ab $\pm$ 0,001	19,5 ab $\pm$ 0,1
56	3,87 ab $\pm$ 0,01	0,107 ab $\pm$ 0,001	19,9 a $\pm$ 0,3
63	3,84 bc $\pm$ 0,01	0,107ab $\pm$ 0,001	19,3 b $\pm$ 0,2
77	3,82 c $\pm$ 0,02	0,107 ab $\pm$ 0,000	19,6 ab $\pm$ 0,1
L3			
0	4,40 a $\pm$ 0,00	0,080 b $\pm$ 0,001	19,5 ab $\pm$ 0,0
32	4,26 c $\pm$ 0,00	0,095 b $\pm$ 0,000	19,5 ab $\pm$ 0,0
40	4,31 bc $\pm$ 0,00	0,096 b $\pm$ 0,000	19,3 b $\pm$ 0,1
49	4,35 ab $\pm$ 0,02	0,092 b $\pm$ 0,001	19,4 b $\pm$ 0,0
60	4,31 bc $\pm$ 0,01	0,097 b $\pm$ 0,001	19,5 ab $\pm$ 0,0
67	4,34 ab $\pm$ 0,02	0,094 b $\pm$ 0,000	19,3 b $\pm$ 0,0
74	4,27 bc $\pm$ 0,00	0,098 b $\pm$ 0,000	19,4 b $\pm$ 0,1
83	4,24 c $\pm$ 0,01	0,097 b $\pm$ 0,002	19,7a $\pm$ 0,2
94	4,23 c $\pm$ 0,08	0,139 a $\pm$ 0,034	19,5 ab $\pm$ 0,1

L - lote

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de significância.

A Tabela 4.1 mostra, que, para L1, houve diferença estatística entre todas as médias, determinadas ao longo do tempo de estocagem a 4°C, para pH, acidez titulável (AT) e teor de sólidos solúveis (SS), exceto para a avaliação de AT no 28° e 56° dia.

Em relação à L2, para a bebida estocada a 4°C, nota-se que para a variável pH houve diferença significativa entre as amostras ao longo de todo o período de estocagem. A amostra no tempo zero diferiu significativamente das demais em relação ao pH assim como as amostras com 28 e 77 dias de estocagem. Com relação à AT, apenas a média obtida em 94 dias diferiu significativamente das demais. Já para o teor de SS, as médias dos dias 56 e 63 mostraram-se significativamente diferentes das demais.

Por fim, nota-se que para L3, houve diferença estatisticamente significativa a 5% entre as médias em 0, 32, 83 e 94 dias de estocagem a 4°C para o pH. Com relação à AT, apenas a média obtida no tempo zero diferiu significativamente das demais, porém, destaca-se a grande amplitude das médias em t_0 e 94 dias de estocagem. Tal amplitude pode estar associada à produção de ácidos decorrentes da multiplicação microbiana na bebida no dia 94, o que provocou também uma redução no pH (4,23). Para SS, houve diferença entre algumas médias ao longo do tempo de estocagem.

É importante mencionar que uma pequena variação decimal das grandezas avaliadas impactou na análise estatística dos resultados. Apesar deste fato, supõe-se que as variações observadas (em pequena magnitude) ao longo do tempo, não exerçam influência apreciável no *ratio* final da bebida e podem ser atribuídas a produtos do metabolismo microbiano e a pequenos erros experimentais.

Apesar de estatisticamente diferentes, não há evidências de que os resultados da caracterização físico-química (Tabela 4.1) tenham exercido influência apreciável nos resultados dos testes sensoriais, a serem discutidos no Item 3.3.1.

3.1.2 Análises físico-químicas das amostras estocadas a 8°C

Os resultados das avaliações de pH, AT e SS em amostras dos três lotes estocadas a 8°C são apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Resultados dos testes físico-químicos de caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 8°C.

Tempo de estocagem (dias)	pH	Acidez (g ácido cítrico/100 mL)	Sólidos solúveis (°Brix)
L1			
0	3,86 d ± 0,01	0,090 d ± 0,00	19,5 f ± 0,0
14	3,97 a ± 0,01	0,090 d ± 0,00	19,6e ± 0,1
28	3,95 c ± 0,00	0,092 c ± 0,00	20,1 a ± 0,1
42	3,96 b ± 0,01	0,095 a ± 0,02	19,7 d ± 0,0
56	3,97 a ± 0,01	0,094 b ± 0,01	20,0 b ± 0,0
70	3,96 b ± 0,02	0,092 c ± 0,01	19,9 c ± 0,0
L2			
0	3,27 c ± 0,04	0,103 b± 0,006	19,4 a ± 0,2
28	3,89 a ± 0,01	0,110 a ± 0,000	19,6 a ± 0,1
42	3,86 ab ±0,01	0,107 ab ± 0,000	19,5 a ± 0,0
49	3,84 ab ±0,03	0,106 ab ± 0,001	19,6 a ± 0,3
56	3,86 ab ±0,01	0,106 ab ± 0,001	19,8 a ± 0,3
63	3,85 ab ±0,01	0,106 ab ± 0,002	19,5 a ± 0,0
77	3,82 b ± 0,01	0,107 ab ± 0,001	19,6 a ± 0,1
L3			
0	4,40 ab ±0,00	0,080 c ± 0,001	19,5 a ± 0,0
32	4,34 abc±0,00	0,095 b ± 0,000	19,5 a ± 0,0
40	4,32 bc ± 0,00	0,097 b ± 0,000	19,5 a ± 0,0
49	4,31 c ± 0,05	0,094 b ± 0,002	19,3 b ± 0,0
60	4,34 abc ±0,06	0,097 b ± 0,001	19,5 a ± 0,0
67	4,41 a ± 0,01	0,095 b ± 0,002	19,5 a ± 0,1
74	4,21 d ± 0,03	0,101 a ± 0,001	19,5 a ± 0,0

L -lote

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de significância.

A partir dos dados da Tabela 4.2, nota-se que para a fração de caldo de cana de L1 estocada a 8°C, houve diferença estatisticamente significativa a 5% em grande parte das médias ao longo do tempo, para pH, AT e SS.

Em L2, para a bebida estocada a 8°C, houve diferença significativa em grande parte das médias ao longo do tempo para o pH. Em relação à AT, apenas

em t_0 e 28 dias de estocagem diferiram entre si. Não houve diferença estatística para as médias de SS ao longo do tempo.

Para L3, houve diferença estatisticamente significativa a 5% em grande parte das médias ao longo do tempo para o pH e AT. No entanto, não houve diferença estatística entre as médias de SS ao longo do tempo.

Novamente, verificou-se que uma pequena variação decimal da grandeza avaliada resultou em diferença estatística significativa entre as médias de pH, AT e SS ao longo do tempo para os três lotes processados.

Apesar de estatisticamente diferentes, não há evidências de que os resultados da caracterização físico-química (Tabela 4.2) tenham exercido influência apreciável nos resultados dos testes sensoriais, a serem discutidos no Item 3.3.2.

3.1.3 Análises físico-químicas das amostras estocadas a 12°C

Os resultados das avaliações de pH, AT e SS em amostras dos três lotes estocadas a 12°C são apresentados na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 - Resultados dos testes físico-químicos de caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 12°C .

Tempo de estocagem (dias)	pH	Acidez (g ácido cítrico/100 mL)	Sólidos solúveis (°Brix)
L1			
0	3,86 c ± 0,01	0,090 d ± 0,00	19,5 c ± 0,0
7	3,96 b ± 0,01	0,096 b ± 0,01	19,8 a ± 0,1
14	3,97 a ± 0,01	0,095 c ± 0,01	19,6 b ± 0,1
21	3,96 b ± 0,01	0,098 a ± 0,01	19,8 a ± 0,1
L2			
0	3,27 c ± 0,04	0,103 a ± 0,006	19,4 b ± 0,2
7	3,88 a ± 0,03	0,107 a ± 0,000	19,8 a ± 0,1
14	3,73 b ± 0,02	0,106 a ± 0,000	19,6 ab ± 0,1
21	3,90 a ± 0,02	0,107 a ± 0,001	19,4 b ± 0,1
28	3,89 a ± 0,02	0,110 a ± 0,000	19,5 ab ± 0,1
L3			
0	4,40 a ± 0,00	0,080 b ± 0,001	19,5 ab ± 0,0
5	4,34 b ± 0,00	0,093 a ± 0,001	19,3 c ± 0,1
12	4,28 c ± 0,02	0,089 a ± 0,002	19,5 ab ± 0,1
19	4,34 b ± 0,01	0,090 a ± 0,001	19,4 bc ± 0,0
26	4,31 bc ± 0,02	0,091 a ± 0,003	19,6 a ± 0,1
32	4,32 bc ± 0,00	0,090 a ± 0,000	19,4 bc ± 0,0

L - lote

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de significância.

De modo similar aos resultados apresentados nas Tabelas 4.1 e 4.2, em L1, constatou-se diferença significativa entre as amostras ao longo do período de estocagem a 12°C, para os três parâmetros físico-químicos avaliados; sendo que uma pequena variação decimal da grandeza avaliada correspondeu a uma variação estatisticamente significativa. Destaca-se que os resultados relativos ao pH e SS não diferiram estatisticamente entre si para 7 e 21 dias.

Em L2, houve diferença significativa entre as amostras ao longo do período de estocagem a 12°C, para o pH e SS. As médias para AT não diferiram entre si.

Por fim, para L3, constatou-se diferença significativa entre as amostras ao longo do período de estocagem a 12 °C, para os três parâmetros físico-químicos avaliados.

As figuras 4.1 a 4.9 complementam os resultados apresentados nas Tabelas 4.1, 4.2 e 4.3, ilustrando as variações do pH, AT e SS ao longo do tempo de estocagem, nas temperaturas investigadas.

Figura 4.1 - Variação das médias do pH em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 1.

Figura 4.2 - Variação das médias do pH em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 2.

Figura 4.3 - Variação das médias do pH em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 3.

Figura 4.4 - Variação das médias da acidez em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 1.

Figura 4.5 - Variação das médias da acidez em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 2.

Figura 4.6 - Variação das médias da acidez em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 3.

Figura 4.7 - Variação das médias do teor de sólidos solúveis em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 1.

Figura 4.8 – Variação das médias do teor de sólidos solúveis em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 2.

Figura 4.9 - Variação das médias do teor de sólidos solúveis em caldo de cana padronizado pasteurizado do lote 3.

Nota-se nas Figuras 4.1 e 4.2, que o valor de pH para as amostras estocadas nas temperaturas estudadas (4, 8 e 12°C) para os lotes 1 e 2, tendeu a aumentar e a estabilizar ao longo do tempo. Diferentemente, a Figura 4.3 mostra uma tendência do pH em cair com o tempo para as amostras do lote 3.

Em relação à AT, também os lotes 1 e 2 tiveram comportamento semelhantes, como mostrado nas Figuras 4.4 e 4.5. Nos dois lotes, AT aumentou ao longo do tempo, até a metade da vida útil estimada para as amostras estocadas a 4 e 8 °C. A partir daí, a AT decresceu até o término da vida de prateleira da

bebida. Porém, a Figura 4.6 mostra que para o lote 3, AT foi crescente ao longo do tempo.

Por fim, as Figuras 4.7, 4.8 e 4.9 mostram que o teor de SS sofreu pequenas variações ao longo do tempo para L1, L2 e L3, mostrando um comportamento não homogêneo.

Eggleston (2002) afirma que os micro-organismos são os principais deteriorantes do caldo de cana, sendo responsáveis por 93% da degradação da sacarose; sendo 5,7% atribuídos à mecanismos de deterioração de natureza enzimática. Pode-se então supor que binômio tempo x temperatura empregado no tratamento térmico atingiu um desempenho satisfatório no que tange à estabilização microbiológica da bebida estocada sob refrigeração; uma vez que os valores de sólidos solúveis sofreram pequenas alterações.

Chauhan et al. (2002) estudaram a variação das propriedades físico-químicas de caldo de cana pasteurizado sob diferentes tratamentos, variando combinações dos binômios tempo x temperatura (60 a 90 °C/ 10 min) e variando as concentrações de ácido cítrico (0,2 à 0,8%), ácido ascórbico (0,4%) e metabissulfito de potássio (150 mg/L). As amostras foram refrigeradas a 4 °C e avaliadas ao longo do tempo de estocagem. Os autores notaram a diminuição do teor de SS e do pH, com consequente aumento da AT.

Yasmin, Massod e Abid (2010) notaram a diminuição do pH e aumento da AT em caldo de cana acidificado pasteurizado a 90 °C/ 5 min após 120 dias de estocagem. O teor de SS manteve-se constante neste mesmo período. Os resultados encontrados pelos autores concordam parcialmente com o presente estudo.

Mao, Xu e Que (2007), em estudo com caldo de cana fresco refrigerado a 10 °C após branqueamento da matéria prima, acidificado com ácido ascórbico, identificaram o aumento de AT e diminuição do pH ao longo do tempo de estocagem.

Krishnakumar, Thamilselvi e Devadas (2013) também notaram aumento de AT e consequente diminuição do pH, ao longo de 15 dias de estocagem em caldo de cana refrigerado a 10°C. O teor de SS mostrou um comportamento irregular. Tais resultados são similares aos encontrados para L3 neste estudo.

3.2 Análises microbiológicas do caldo de cana processado

Para avaliar a estabilidade microbiológica da bebida procedeu-se à contagem de bactérias e fungos psicrotróficos, uma vez que a evolução dos referidos grupos foi adotada como critério para estudo da estabilidade microbiológica da bebida estocada sob refrigeração. Como comentado anteriormente, contagens de bactérias e fungos psicrotróficos equivalentes a 10^4 e 10^3 UFC/mL, respectivamente, foram estabelecidas como níveis máximos aceitáveis.

O tratamento estatístico dos resultados não foi realizado devido ao fato de muitas contagens terem sido expressas como resultados estimados, por conta dos limites de sensibilidade inerentes às técnicas de plaqueamento.

3.2.1 Análise microbiológica de caldo de cana estocado a 4°C

Os resultados obtidos na contagem de bactérias e fungos psicrotróficos em caldo de cana estocado a 4°C (temperatura ideal) são apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 - Contagem de psicrotróficos (UFC/mL) em caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 4°C.

Estocagem (dias)	Bactérias	Fungos
L1		
0	< 1,00	< 1,00
28	$1,3 \times 10^2 \pm 7,6 \times 10$	$1,7 \times 10 \pm 2,9 \times 10$
56	$5,0 \times 10 \pm 5,0 \times 10$	< 1,0
L2		
0	< 1,00	< 1,00
28	< 1,00	< 1,00
42	< 1,00	< 1,00
49	< 1,00	< 1,00
56	< 1,00	< 1,00
63	< 1,00	< 1,00
77	< 1,00	< 1,00
L3		
0	< 1,00	< 1,00
32	$3,4 \times 10 \pm 5,7 \times 10$	< 1,00
40	< 1,00	< 1,00
48	$5,8 \times 10^2 \pm 3,2 \times 10^2$	< 1,00
60	$1,7 \times 10 \pm 2,8 \times 10$	$3,9 \times 10 \pm 2,8 \times 10$
67	< 1,00	< 1,00
74	< 1,00	$6,7 \times 10 \pm 1,1 \times 10$
83	< 1,00	< 1,00
94	< 1,00	< 1,00

L- lote

Os resultados da Tabela 4.4, em L1, L2 e L3, sugerem uma boa estabilidade microbiológica da bebida acondicionada em garrafas de PET, estocada a 4°C, na ausência de luz, ao longo de 56 , 77 e 94 dias de estocagem, respectivamente.

Os obstáculos que favoreceram a estabilidade microbiológica da bebida incluem o seu pH ácido, resultante da adição de ácido cítrico na etapa de padronização, a pasteurização, o envase asséptico em garrafas previamente descontaminadas e a estocagem refrigerada.

Ressalta-se que, embora o produto tenha se mantido microbiologicamente estável ao longo de 56 dias de estocagem em L1, as análises foram interrompidas por conta da depreciação da qualidade sensorial da bebida, evidenciada pelos testes de escala hedônica, conforme descrito no item 3.3.1.

Porém, em L2 e L3, os tempos estimados para vida útil de caldo de cana padronizado pasteurizado estocados a 4 °C, foram determinados pela inspeção visual, constatando-se a deterioração da bebida em algumas amostras.

Apesar do caldo de cana estocado a 4°C ter se mantido microbiologicamente estável, tanto em L2 quanto em L3, detectou-se aleatoriamente a presença de algumas poucas amostras com sinais evidentes de deterioração, com formação de gás e presença de material sólido (supostamente gomas).

Geraldini et al. (1979) cita que as bactérias lácticas são microaerófilas, toleram pH ácido e apresentam baixa resistência térmica sendo, geralmente, destruídas quando submetidas ao tratamento térmico. Os produtos resultantes da degradação pelas bactérias lácticas são o diacetil, que induz odor forte e sabor desagradável, CO₂, ácido láctico e dextranas, que alteram a viscosidade do produto.

Yusof, Shian e Osman. (2000) estudaram o caldo de cana *in natura* e notaram um aumento da viscosidade durante a estocagem refrigerada; atribuído à formação de dextrana, substância gomosa provavelmente produzida pela bactéria *Leuconostoc mesenteroides*.

Por este motivo, decidiu-se interromper as análises sensoriais para a segurança dos provadores.

3.2.2 Análise microbiológica de caldo de cana estocado a 8°C

Os resultados obtidos na contagem de bactérias e fungos psicrotróficos em caldo de cana processado e estocado a 8°C (temperatura comercial) são apresentados na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 - Contagem de psicrotróficos (UFC/mL) em caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 8°C.

Estocagem (dias)	Bactérias	Fungos
L1		
0	< 1,00	< 1,00
14	< 1,00	< 1,00
28	$1,00 \times 10^2 \pm 1,00 \times 10$	$1,00 \times 10^2 \pm 1,00 \times 10^2$
42	< 1,00	< 1,0
56	$1,00 \times 10^2 \pm 1,00 \times 10^2$	$5,00 \times 10 \pm 5,00 \times 10$
70	< 1,00	< 1,00
L2		
0	< 1,00	< 1,00
28	< 1,00	< 1,00
42	< 1,00	< 1,00
49	< 1,00	< 1,00
56	< 1,00	< 1,00
63	< 1,00	$3,4 \times 10 \pm 5,7 \times 10$
77	$8,4 \times 10 \pm 7,6 \times 10$	< 1,0
L3		
0	< 1,00	< 1,00
32	< 1,00	< 1,00
40	$3,4 \times 10 \pm 2,8 \times 10$	$5,0 \times 10 \pm 1,1 \times 10$
48	$4,5 \times 10^2 \pm 4,4 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2 \pm 2,6 \times 10^2$
60	$1,7 \times 10 \pm 2,8 \times 10$	< 1,00
67	< 1,00	$2,0 \times 10^2 \pm 1,3 \times 10^2$
74	< 1,00	$1,7 \times 10 \pm 2,8 \times 10$

L - lote

A Tabela 4.5, analogamente aos resultados apresentados para o caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 4°C, para L1, sugere uma boa estabilidade microbiológica da bebida estocada a 8°C, na ausência de luz, ao longo de 70 dias de estocagem.

As contagens de bactérias e fungos psicrotróficos não ultrapassaram os limites máximos pré-estabelecidos para estes grupos de micro-organismos.

Embora o produto tenha se mantido microbiologicamente estável ao longo de 70 dias de estocagem em L1, as análises foram interrompidas porque o estoque de amostras esgotou-se antes de atingir o fim da vida útil da bebida.

No entanto, em L2 e L3, com a redefinição das frequências de análises discutida na sessão 2, um maior volume de caldo *in natura* foi processado e consequentemente, um maior número de embalagens foi estocado.

Em L2 e L3, os tempos de vida útil a 8°C, foram estimados pela observação visual de deterioração da bebida, assim como ocorreu com o caldo processado estocado a 4 °C (sessão 3.2.1, deste capítulo).

Apesar do caldo de cana estocado a 8°C ter se mantido microbiologicamente estável, tanto em L2 quanto em L3, detectou-se a presença de algumas poucas amostras com sinais de deterioração, com formação de gás e presença de gomas. Por este motivo, optou-se pela interrupção das sessões de análise sensorial e consequentemente, das análises microbiológicas.

3.2.3 Análise microbiológica de caldo de cana estocado a 12 °C

Os resultados obtidos na contagem de bactérias e fungos psicrotróficos em caldo de cana processado e estocado a 12°C (temperatura abusiva) são apresentados na Tabela 4.6.

Tabela 4.6 - Contagem de psicrotróficos (UFC/mL) em caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 12°C .

Estocagem (dias)	Bactérias	Fungos
L1		
0	< 1,00	< 1,00
7	< 1,00	< 1,00
14	< 1,00	< 1,00
L2		
0	< 1,00	< 1,00
6	$3,4 \times 10 \pm 2,1 \times 10$	$8,4 \times 10 \pm 7,6 \times 10$
12	< 1,00	$3,4 \times 10 \pm 2,1 \times 10$
18	< 1,00	< 1,00
21	$5,1 \times 10 \pm 8,6 \times 10$	$1,2 \times 10^2 \pm 1,2 \times 10^2$
L3		
0	< 1,00	< 1,00
5	< 1,00	< 1,00
12	$1,0 \times 10^2 \pm 5,0 \times 10$	< 1,00
19	< 1,00	< 1,00
26	< 1,0	< 1,00
32	< 1,00	$1,7 \times 10 \pm 2,8 \times 10$

L - lote

Surpreendentemente a fração do lote estocada a 12°C apresentou contagens bastante reduzidas durante 14, 21 e 32 dias de estocagem, para L1, L2 e L3, respectivamente.

Em todos os lotes analisados, os testes microbiológicos foram interrompidos em virtude da depreciação da qualidade sensorial da bebida estocada a 12°C.

De forma geral, os resultados obtidos nos testes microbiológicos indicam o bom desempenho das tecnologias de processamento e envase empregadas na pesquisa, proporcionando satisfatória estabilidade microbiológica ao produto.

Chauhan et al. (2002) observaram o aumento do número de unidades formadoras de colônias para fungos e bactérias em caldo de cana pasteurizado refrigerado durante o período de estocagem.

Em estudo de Yasmin, Massod e Abid, caldo de cana foi acidificado a pH 4,3 com ácido cítrico e a bebida foi pasteurizada a 90°C/ 5 min . O caldo foi envasado a

quente em garrafas de vidro e armazenado à temperatura ambiente por 120 dias. Durante este período, os autores citam que não houve desenvolvimento de micro-organismos aeróbios totais nem de bolores e leveduras. Estes resultados estão de acordo com os obtidos para o presente estudo.

Mao, Xu e Que (2007) identificaram que a acidificação com ácido ascórbico e o branqueamento da matéria-prima também foram eficientes na redução da taxa de desenvolvimento microbiano durante a estocagem de caldo de cana fresco a 10°C, atingindo uma vida útil de 5 dias.

3.3 Avaliação sensorial

Os testes sensoriais revelaram-se como um fator decisivo na determinação da vida útil do caldo de cana. Conforme mencionado anteriormente, a estabilidade sensorial do produto, em todos os lotes processados e para todas as temperaturas estudadas, foi determinada adotando-se o valor 5 (nem gostei/nem desgostei) na escala de 9 pontos como nota de corte. Como critério complementar, estabeleceu-se uma porcentagem de aceitação superior a 60%, para definir o término da estabilidade do produto.

Os resultados das amostras controle não foram tratados estatisticamente porque estas foram mantidas a -18°C durante todo o estudo, condição que reduz consideravelmente a taxa de deterioração da bebida; preservando, supostamente, as suas características sensoriais iniciais. Os valores em destaque indicam médias de notas e porcentagens de aceitação iguais ou inferiores a 5 e 60%, respectivamente.

3.3.1 Análise sensorial de caldo de cana estocado a 4°C

Os resultados com as médias das notas obtidas no teste de escala hedônica de nove pontos são apresentados na Tabela 4.7.

Tabela 4.7 - Aceitação sensorial de caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 4°C.

Tempo de estocagem (dias)	(média ¹ ± desvio-padrão / %aceitação ²)			
	Aparência		Sabor	
	Controle	Amostra	Controle	Amostra
L1				
0	7,0 a ± 1,4 / 86		6,5 a ± 1,8 / 76	
28	6,7 A ± 1,4 / 82	6,3 Bab ± 1,6 / 72	6,7 A ± 1,7 / 82	6,1 Ba ± 1,8 / 68
42	7,1 A ± 1,3 / 86	6,4 Bab ± 1,9 / 72	6,9 A ± 1,6 / 90	6,9 Aa ± 1,7 / 84
56	7,3 A ± 1,3 / 90	5,7 Bb ± 1,6 / 58	6,8 A ± 1,6 / 86	6,0 Ba ± 1,6 / 68
L2				
0	7,0 a ± 1,4/ 94		7,1 a ± 1,5/ 92	
28	7,3 A ± 1,2/ 92	6,9 Aa ± 1,6/ 90	7,5 A ± 1,6/ 92	6,6 Ba ± 1,8/ 82
42	7,4 A ± 1,0/ 100	6,9 Ba ± 1,3/ 96	7,2 A ± 1,3/ 94	6,8 Aa ± 1,5/ 84
49	7,4 A ± 1,4/ 92	7,3 Aa ± 1,4/ 96	7,1 A ± 1,3/ 92	7,4 Aa ± 1,5/ 92
56	7,3 A ± 1,2/ 96	6,9 Ba ± 1,9/ 92	6,9 A ± 1,2/ 96	6,7 Aa ± 1,5/ 90
63	7,0 A ± 1,4/ 96	7,0 Aa ± 1,2/ 96	7,0 A ± 1,6/ 88	7,1 Aa ± 1,5/ 90
77	7,2 A ± 1,3/ 96	7,1 Aa ± 1,4/ 94	6,9 A ± 1,4/ 94	6,8 Aa ± 1,5/ 88
L3				
0	7,2 a ± 1,5/ 94		7,3 a ± 1,6/ 94	
32	6,7 A ± 1,5/ 90	6,7 Aa ± 1,6/ 92	6,7 A ± 1,8/ 86	6,4 Aa ± 1,9/ 84
40	7,0 A ± 1,2/ 98	6,8 Aa ± 1,4/ 92	7,0 A ± 1,8/ 84	6,8 Aa ± 1,7/ 84
49	7,2 A ± 1,5/ 92	7,2 Aa ± 1,2/ 96	7,2 A ± 1,6/ 90	7,2 Aa ± 1,7/ 92
60	7,0 A ± 1,3/ 94	7,2 Aa ± 1,4/ 94	7,0 A ± 1,7/ 88	7,2 Aa ± 1,9/ 84
67	6,8 A ± 1,2/ 96	6,6 Aa ± 1,4/ 88	6,9 A ± 1,7/ 86	6,9 Aa ± 1,6/ 90
74	6,7 A ± 1,1/ 96	6,6 Aa ± 1,4/ 96	6,8 A ± 2,0/ 80	6,4 Ba ± 1,8/ 80
83	6,6 A ± 1,6/ 88	6,6 Aa ± 1,7/ 88	6,8 A ± 1,7/ 88	6,3 Ba ± 2,2/ 72
94	6,7 A ± 1,8/ 84	6,5 Aa ± 1,4/ 92	6,9 A ± 1,6/ 92	6,6 Aa ± 1,7/ 84

L - lote

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na mesma coluna (comparação entre tempos de estocagem) não são diferentes ($P > 0,05$).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na mesma linha (comparação entre controle e amostra) não são diferentes ($P > 0,05$).

²Porcentagem de provadores que atribuiu nota superior a 5 na escala hedônica de 9 pontos (1 = desgostei muitíssimo; 5 = nem gostei/nem desgostei; 9 = gostei muitíssimo). Controle: estocado a -18 °C. Número de provadores: 50. Temperatura de degustação: 12-13 °C

A Tabela 4.7 mostra que houve diferença estatística a 5% de significância entre as médias de aceitação sensorial da bebida para aparência apenas em L1 (56° dia de estocagem). Em relação ao sabor não houve diferença significativa entre as médias, ao longo do tempo para todos os lotes estudados.

No que refere a esta diferença observada em L1 para aparência, reportando-se aos resultados Tabela 4.1 no item 3.1.1, sugere-se que os provadores não foram influenciados pela variação das avaliações físico-químicas do caldo estocado a 4 °C no que ao tange ao sabor. Quanto à aparência, não se pode afirmar que não houve correlação na aceitação deste atributo com a variação físico-química da bebida.

Em L1, houve diferença na comparação entre as médias da amostra controle e da amostra a 4°C para a maioria dos tempos avaliados, para aparência e sabor. No entanto, em L3, nota-se que as médias entre controle e amostra não diferiram entre si, no que se refere à aparência, nos diferentes tempos avaliados.

O critério complementar não foi atendido em L1 após 56 dias de estocagem, para a aparência (58% de aceitação); assumindo-se, portanto, uma estabilidade equivalente a 42 dias para o referido lote.

Vale mencionar que a proposta inicial para a frequência de análises no lote 1, a 4 °C, foi mensal. No entanto, avaliou-se a bebida após 42 dias a fim de repensar as frequências de testes propostas no projeto inicialmente. Esta tentativa foi bem sucedida no sentido de que foi possível estender a vida útil do caldo a 4 °C em 14 dias; pois, caso esta análise não fosse realizada, a vida útil do produto seria considerada de apenas 28 dias.

Conforme citado no item 3.2.1, apesar de todas as amostras dos lotes 2 e 3, estocadas a 4 °C, terem se mostrado microbiologicamente estáveis, a detecção de algumas unidades com formação de gás e gomas (Figura 4.11), motivou a interrupção dos testes. Sendo assim, a estabilidade sensorial do caldo de cana padronizado pasteurizado estimada para L2 e L3 foi de 77 e 94 dias, respectivamente.

3.3.2 Análise sensorial de caldo de cana estocado a 8°C

Os resultados com as médias das notas obtidas no teste de escala hedônica de nove pontos são apresentados na Tabela 4.8.

Tabela 4.8 - Aceitação sensorial de caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a 8°C.

Tempo de estocagem (dias)	(média ¹ ± desvio-padrão / %aceitação ²)			
	Aparência		Sabor	
	Controle	Amostra	Controle	Amostra
L1				
0	7,0 ab ± 1,4 / 86		6,5 a ± 1,8 / 76	
14	7,3 A ± 1,3 / 86	6,3 Bb ± 1,6 / 80	7,1 A ± 1,4 / 90	6,4 Ba ± 1,7 / 82
28	6,7 A ± 1,4 / 82	6,8 Aab ± 1,7 / 88	6,7 A ± 1,7 / 82	6,5 Aa ± 2,0 / 78
42	7,1 A ± 1,3 / 86	7,0 Aab ± 1,4 / 86	6,9 A ± 1,6 / 90	6,6 Aa ± 1,8 / 84
56	7,3 A ± 1,3 / 90	7,2 Aa ± 1,2 / 86	6,8 A ± 1,6 / 86	6,8 Aa ± 1,4 / 84
70	7,4 A ± 1,3 / 94	7,1 Aab ± 1,4 / 86	7,4 A ± 1,3 / 92	6,6 Ba ± 1,5 / 80
L2				
0	7,0 a ± 1,4 / 94		7,1 a ± 1,5 / 92	
28	7,3 A ± 1,2 / 92	6,9 Ba ± 1,4 / 94	7,3 A ± 1,2 / 92	6,9 Ba ± 1,4 / 94
42	7,4 A ± 1,0 / 100	6,9 Ba ± 1,5 / 90	7,4 A ± 1,0 / 100	6,9 Ba ± 1,5 / 90
49	7,4 A ± 1,4 / 92	7,0 Ba ± 1,7 / 92	7,4 A ± 1,4 / 92	7,0 Ba ± 1,7 / 92
56	7,3 A ± 1,2 / 96	6,6 Ba ± 1,5 / 90	7,3 A ± 1,2 / 96	6,6 Ba ± 1,5 / 90
63	7,0 A ± 1,4 / 96	7,1 Aa ± 1,3 / 98	7,0 A ± 1,4 / 96	7,1 Aa ± 1,3 / 98
77	7,2 A ± 1,3 / 96	6,9 Aa ± 1,5 / 92	7,2 A ± 1,3 / 96	6,9 Aa ± 1,5 / 92
L3				
0	7,2 a ± 1,5 / 94		7,3 a ± 1,6 / 94	
32	6,7 A ± 1,6 / 90	6,7 Aa ± 1,5 / 90	6,6 A ± 1,8 / 86	6,2 Aa ± 1,7 / 80
40	7,0 A ± 1,2 / 98	7,0 Aa ± 1,3 / 96	6,6 A ± 1,8 / 94	6,1 Ba ± 1,9 / 78
49	7,2 A ± 1,5 / 92	7,2 Aa ± 1,3 / 94	7,0 A ± 1,6 / 92	6,9 Aa ± 1,5 / 90
60	7,0 A ± 1,3 / 94	7,1 Aa ± 1,5 / 94	6,5 A ± 1,7 / 88	6,5 Aa ± 1,9 / 76
67	6,8 A ± 1,2 / 96	6,9 Aa ± 1,2 / 94	6,9 A ± 1,7 / 86	7,0 Aab ± 1,4 / 90
74	6,7 A ± 1,1 / 96	6,7 Aa ± 1,1 / 96	6,8 A ± 2,0 / 80	6,3 Bb ± 1,7 / 88

L - lote

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na mesma coluna (comparação entre tempos de estocagem) não são diferentes ($P > 0,05$).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na mesma linha (comparação entre controle e amostra) não são diferentes ($P > 0,05$).

²Porcentagem de provadores que atribuiu nota superior a 5 na escala hedônica de 9 pontos (1 = desgostei muitíssimo; 5 = nem gostei/nem desgostei; 9 = gostei muitíssimo). Controle: estocado a -18 °C. Número de provadores: 50. Temperatura de degustação: 12-13 °C

Conforme os resultados apresentados na Tabela 4.8, verificou-se que em L1, houve diferença significativa a 5% entre as médias de notas das amostras apenas para a aparência, ao longo do tempo de estocagem. Em L2, ao longo do tempo de estocagem, não houve diferença significativa entre as médias sensoriais para os atributos avaliados. Já em L3, apenas a média para sabor da amostra com 74 dias de estocagem diferiu significativamente das demais.

Reportando-se aos dados da Tabela 4.2, do item 3.1.2, estes sugerem que houve correlação das variações físico-químicas na aceitação da bebida estocada a 8 °C, para aparência e sabor em L1 e L3, respectivamente.

A comparação entre as médias de notas do controle e da amostra refrigerada a 8 °C revelou que estas não diferiram estatisticamente entre si quanto a aparência, apenas para L3, a 5%, em todos tempo avaliados.

Como mencionado no item 3.2.2 deste capítulo, embora o produto tenha se mantido microbiologicamente estável ao longo de 70 dias de estocagem em L1, as análises foram interrompidas porque as amostras estocadas acabaram antes de se chegar ao fim da vida útil da bebida. Ressalta-se que no primeiro lote da bebida processada, não se tinha ideia de que a bebida estocada a 8 °C teria uma estabilidade tão longa.

No entanto, em L2 e L3, com a redefinição das frequências de análises discutida na sessão 2, um maior volume de caldo *in natura* foi processado e consequentemente, um maior número de unidades foi estocado.

Porém, em L2 e L3, os tempos estimados para vida útil de caldo de cana padronizado pasteurizado estocados a 8 °C, foram determinados pela observação visual de deterioração da bebida, assim como ocorreu com o caldo processado estocado a 4 °C (sessão 3.2.1, deste capítulo).

No lote 1 a estabilidade sensorial da bebida foi estimada em 70 dias, sob estocagem a 8°C, na ausência de luz. Contrariando a expectativa inicial, a estabilidade sensorial do produto estocado a 8°C foi superior à estabilidade da bebida à 4°C. Atribuiu-se este resultado à participação de provadores não treinados e a eventuais transformações químicas e bioquímicas no caldo de cana estocado a 8°C que tenham resultado em uma aparência e sabor mais atrativos aos provadores.

No entanto, nota-se que no lote 2 a vida útil do caldo de cana estocado a 8 °C foi a mesma que para a fração do mesmo lote, estocada a 4°C. Para o 3° lote

processado, a vida útil da bebida estocada a 8°C foi 20 dias mais curta se comparada a fração do mesmo lote, estocada a 4°C.

3.3.3 Análise sensorial de caldo de cana estocado a 12°C

Os resultados com as médias das notas obtidas no teste de escala hedônica de nove pontos são apresentados na Tabela 4.9.

Tabela 4.9 - Aceitação sensorial de caldo de cana padronizado pasteurizado estocado a **12°C**.

Tempo de estocagem (dias)	(média ¹ ± desvio-padrão / %aceitação ²)			
	Aparência		Sabor	
	Controle	Amostra	Controle	Amostra
L1				
0	7,0 ab ± 1,4 / 86		6,5 ab ± 1,8 / 76	
7	6,7 A ± 1,4 / 84	6,6 Aab ± 1,3 / 84	7,1 A ± 1,5 / 94	6,6 Aa ± 1,4 / 82
14	7,3 A ± 1,3 / 86	7,1 Aa ± 1,3 / 98	7,1 A ± 1,4 / 90	6,4 Bab ± 1,5 / 88
21	7,0 A ± 1,4 / 86	6,3 Bb ± 1,7 / 74	7,1 A ± 1,3 / 92	5,6 Bb ± 2,1 / 58
L2				
0	7,0 a ± 1,4 / 94		7,1 a ± 1,5 / 92	
7	7,4 A ± 1,2 / 96	7,0 Ba ± 1,5 / 94	7,4 A ± 1,2 / 96	7,0 Ba ± 1,5 / 94
14	7,2 A ± 1,1 / 100	7,0 Aa ± 1,3 / 96	7,2 A ± 1,1 / 100	7,0 Aa ± 1,3 / 96
21	7,3 A ± 1,1 / 100	7,3 Aa ± 1,1 / 98	7,1 A ± 1,5 / 94	7,1 Aa ± 1,5 / 94
28	7,3 A ± 1,4 / 92	6,6 Ba ± 1,7 / 92	7,5 A ± 1,4 / 92	5,5 Bb ± 2,1 / 60
L3				
0	7,2 a ± 1,5 / 94		7,3a ± 1,6 / 94	
5	7,1 A ± 1,3 / 98	6,9 Aa ± 1,5 / 92	7,4 A ± 1,4 / 92	7,2 Aa ± 1,4 / 94
12	6,9 A ± 1,5 / 92	6,9 Aa ± 1,4 / 90	7,5 A ± 1,5 / 92	6,9 Ba ± 1,6 / 90
19	7,1 A ± 1,2 / 98	6,9 Aa ± 1,6 / 90	7,2 A ± 1,2 / 96	6,6 Bab ± 1,6 / 88
26	7,2 A ± 0,9 / 100	7,0 Aa ± 1,0 / 98	7,4 A ± 1,1 / 98	6,6 Bab ± 1,7 / 86
32	6,8 A ± 1,6 / 90	6,8 Aa ± 1,3 / 94	6,6 A ± 1,8 / 86	5,8 Bb ± 1,7 / 56

L - lote

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na mesma coluna (comparação entre tempos de estocagem) não são diferentes ($P > 0,05$).Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na mesma linha (comparação entre controle e amostra) não são diferentes ($P > 0,05$).²Porcentagem de provadores que atribuiu nota superior a 5 na escala hedônica de 9 pontos (1 = desgostei muitíssimo; 5 = nem gostei/nem desgostei; 9 = gostei muitíssimo). Controle: estocado a -18 °C. Número de provadores: 50. Temperatura de degustação: 12-13 °C

A Tabela 4.9 evidencia diferença estatística a 5% de significância entre as médias de notas para aparência e para o sabor para o lote 1, ao longo do tempo de estocagem. Para os lotes 2 e 3, apenas as médias relacionadas ao sabor diferiram significativamente ao longo do tempo.

Na maioria dos tempos avaliados, as médias de notas do controle diferiram da amostra refrigerada a 12 °C, nos três lotes processados.

Em L1, considerando que a porcentagem de aceitação para o sabor foi inferior a 60% após 21 dias de estocagem a 12°C, a estabilidade sensorial da bebida foi limitada a 14 dias, em virtude do emprego de uma temperatura considerada abusiva.

Em L2, considerando que a porcentagem de aceitação para o sabor foi de 60% após 28 dias de estocagem a 12 °C, a estabilidade sensorial da bebida foi limitada a 21 dias.

Por fim, em L3, a porcentagem de aceitação para o sabor foi de 56% após 32 dias de estocagem a 12°C, logo, a estabilidade sensorial da bebida foi limitada a 28 dias.

Observa-se que a vida útil do caldo de cana estocado a 12°C aumentou com o decorrer dos lotes da bebida processados. Este fato pode estar associado com a frequência de análises em L3, que reduziu o intervalo de tempo entre os testes, se comparado a L1 e L2.

De maneira geral, o percentual de aceitabilidade do caldo de cana padronizado pasteurizado, nas temperaturas de 4, 8 e 12°C foi positiva, nos três lotes processados, considerando-se o tempo inicial (t_0) do estudo, variando de 76 a 94% para os dois atributos analisados. Índices acima de 70% de aprovação revelam uma boa aceitação, conforme TEIXEIRA; MEINERT; BARBETTA; 1987; DUTCOSKI; 1996.

Chauhan et al. (2002), aplicando testes de escala hedônica, observaram queda nas médias de notas para aparência, aroma e aceitação global em caldo de cana pasteurizado refrigerado durante o tempo de estocagem. Em estudo similar, Yasmin, Massod e Abid (2010) observaram uma boa aceitação do caldo de cana pasteurizado após 120 dias de estocagem.

Em um trabalho realizado por SILVA (2004), o caldo de cana foi submetido a 141 °C / 10 s e envasado assepticamente em garrafas de vidro previamente esterilizadas. No segundo processo, o caldo foi submetido ao tratamento térmico a 110 °C / 10 s e envasado a quente ($90 \pm 5^\circ\text{C}$) em garrafas de vidro. O lote processado assepticamente apresentou vida útil de 30 dias e o envasado a quente, 60 dias, não apresentando diferença estatística ($p < 0,05$) nos testes sensoriais de aceitação, em relação às amostras congeladas. O envase a quente causou menor escurecimento ao produto durante estocagem à temperatura ambiente e maiores médias de aceitação sensorial em relação à aparência, ao aroma e à

impressão global, possivelmente devido ao maior efeito térmico sobre a inativação das enzimas do caldo de cana.

Rezzadori (2010) avaliou os tratamentos de microfiltração e pasteurização P1 (90 °C / 30 s) e P2 (95°C / 30 s) de caldo de cana adicionado de 5% de polpa de maracujá. Os atributos analisados apresentaram diferença significativa a um nível de confiança de 95%, indicando que a bebida pasteurizada P2 recebeu as maiores notas para os atributos aparência, sabor e impressão global, entre “gostei muito” e “gostei muitíssimo”, correspondendo a um índice de aceitabilidade superior a 90%. O uso da microfiltração, utilizando temperaturas mais amenas, contribuiu para reduzir as perdas sensoriais do produto processado levando-o à uma maior aceitação.

As figuras 4.10 a 4.15 complementam os resultados apresentados nas tabelas anteriores, ilustrando a evolução das médias das notas nos testes sensoriais. Verificou-se que as médias situaram-se próximas a 7 (gostei moderadamente) para os três lotes avaliados. Exceto para a bebida estocada a 12°C, as médias de notas para aparência e sabor tiveram um comportamento regular em L1, L2 e L3. A linha horizontal acima do eixo do tempo de estocagem representa a nota de corte (5).

Figura 4.10 - Evolução das médias de notas para **aparência** de caldo de cana padronizado pasteurizado, a diferentes temperaturas de estocagem do **lote 1** (L1).

Figura 4.11 - Evolução das médias de notas para **sabor** de caldo de cana padronizado pasteurizado, a diferentes temperaturas de estocagem do **lote 1** (L1).

Figura 4.12 - Evolução das médias de notas para **aparência** de caldo de cana padronizado pasteurizado, a diferentes temperaturas de estocagem do **lote 2** (L2).

Figura 4.13 - Evolução das médias de notas para **sabor** de caldo de cana padronizado pasteurizado, a diferentes temperaturas de estocagem do **lote 2** (L2).

Figura 4.14 - Evolução das médias de notas para **aparência** de caldo de cana padronizado pasteurizado, a diferentes temperaturas de estocagem do **lote 3** (L3).

Figura 4.15 - Evolução das médias de notas para **sabor** de caldo de cana padronizado pasteurizado, a diferentes temperaturas de estocagem do lote 3 (L3).

3.4 Intenção de compra

Complementarmente aos testes de escala hedônica, realizaram-se testes de intenção de compra, cujos resultados são mostrados nas Figuras 4.16 a 4.24, para 4, 8 e 12°C, referentes aos lotes 1, 2 e 3.

Figura 4.16 - Gráfico de intenção de compra do **lote 1** de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a **4°C**. VP - vida de prateleira em dias.

Figura 4.17 - Gráfico de intenção de compra do **lote 1** de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 8°C. VP - vida de prateleira em dias.

Figura 4.18 - Gráfico de intenção de compra do **lote 1** de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 12°C. VP - vida de prateleira em dias.

Figura 4.19 - Gráfico de intenção de compra do **lote 2** de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 4°C. VP - vida de prateleira em dias.

Figura 4.20 - Gráfico de intenção de compra do **lote 2** de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 8°C. VP - vida de prateleira em dias.

Figura 4.21 - Gráfico de intenção de compra do **lote 2** de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 12°C. VP - vida de prateleira em dias.

Figura 4.22 - Gráfico de intenção de compra do **lote 3** de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 4°C. VP - vida de prateleira em dias.

Figura 4.23 - Gráfico de intenção de compra do **lote 3** de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 8°C. VP - vida de prateleira em dias.

Figura 4.24 - Gráfico de intenção de compra do **lote 3** de caldo de cana padronizado pasteurizado e estocado a 12°C. VP - vida de prateleira em dias.

As avaliações dos provadores em VP0 (bebida recém-processada) foram muito bem aceitas, pois os maiores percentuais de respostas foram “talvez compraria” (44 % das avaliações) para L1; “provavelmente compraria” (46 % das avaliações) para L2 e “provavelmente compraria” (44 % das avaliações) para L3.

Os gráficos de intenção de compra do produto estocado a 4°C revelaram que no final da vida útil dos lotes L1, L2 e L3, isto é, na VP42, VP77 e VP94, respectivamente, os maiores percentuais de avaliação situaram-se em “talvez compraria”.

Os gráficos de intenção de compra do produto estocado a 8°C revelaram que no final da vida útil da bebida, os maiores percentuais de avaliação em VP70 para L1, situaram-se em “provavelmente compraria” e que em VP77 e VP74, para L2 e L3, respectivamente, situaram-se em “talvez compraria”.

Os gráficos de intenção de compra do produto estocado a 12 °C revelaram que no final da vida útil dos lotes L1, L2 e L3, isto é, nas VP14, VP21 e VP26, respectivamente, os maiores percentuais de avaliação situaram-se em “talvez compraria”.

A despeito das avaliações de intenção de compra no fim da vida útil terem se concentrado em “provavelmente compraria” e “talvez compraria” assim com em VP0, independentemente de lote ou de temperatura de estocagem, este fato revela que os provadores podem ter manifestado de intenção de compra positiva do caldo de cana mesmo quando atribuíram notas menores que 5 para aparência e sabor.

Prati, Moretti e Cardello (2005) avaliaram sensorialmente as bebidas elaboradas com caldo de cana parcialmente clarificado-estabilizado e adição de 5% de suco de maracujá, 10% de suco de abacaxi e 7,5% de suco de limão e verificaram que a maioria dos provadores atribuiu o conceito “provavelmente compraria” às misturas apresentadas, evidenciando que todas as bebidas teriam boa aceitação junto ao mercado consumidor. Nesse estudo, para as bebidas submetidas aos processamentos, os provadores atribuíram conceitos em relação à atitude de compra entre “talvez compraria” à “provavelmente compraria”, sugerindo um bom potencial de mercado da bebida.

3.5 Estimativa da vida de prateleira

Os resultados obtidos na avaliação da estabilidade microbiológica e sensorial, em conformidade com os critérios pré-estabelecidos, foram utilizados para estimar o tempo de vida útil de cada lote processado.

A Tabela 4.10 apresenta os tempos de vida útil estimados para os três lotes de caldo de cana padronizado pasteurizado a 95 °C/30 s, acondicionado assepticamente em garrafas de PET monocamadas pigmentadas com dióxido de titânio (TiO₂), com tampas de rosca de polipropileno (PP), com capacidade volumétrica de 270 mL, estocados a 4, 8 e 12 °C, na ausência de luz.

Tabela 4.10 - Estimativa de vida de prateleira (VP) para caldo de cana pasteurizado estocado sob refrigeração na ausência de luz.

Temperatura de estocagem (°C)	VP (dias)		
	L1	L2	L3
4	42	77	94
8	70	77	74
12	14	21	26

* L - lote

A Tabela 4.10 mostra variações consideráveis na VP estimada para as diferentes temperaturas de estocagem e diferentes lotes processados.

Nota-se que para os três lotes estudados, as amostras estocadas a 8°C apresentaram VP muito próximas, enquanto que para as amostras estocadas à 4°C, houve um incremento na VP do primeiro para o último processamento.

Salienta-se que a redefinição das frequências de execução das análises microbiológicas e dos testes sensoriais para L2 e L3, citada nos itens anteriores, foi de fundamental importância para obter maior número de dados experimentais, tornando possível o incremento da vida útil da bebida nos referidos lotes.

Segundo Guillet e Rodrigue (2010), uma falha comum em testes de vida de prateleira, denominada intervalo de censura (*interval-censoring*) pode ocorrer quando os intervalos entre as análises de uma amostra são muito extensos. Nestas

situações, os autores afirmam ser impossível detectar o fim da vida útil exata de uma amostra, pois pode atribuir-se uma VP ao produto muito inferior ao que realmente ele possui.

Exemplificando, ao se reduzir os intervalos de análises para as amostras nas diferentes temperaturas de estudo em L2 e L3, pode-se obter VP mais longas para as amostras estocadas a 4 e 12°C.

Como comentado no item 3.3.1, a presença de amostras com indícios de deterioração limitaram a continuação das análises sensoriais em algumas temperaturas de estocagem, limitando também a investigação de fim da vida de útil do produto a partir das notas de corte pré-estabelecidas no estudo.

A Figura 4.25 apresenta um histograma com as médias dos tempos de vida útil.

Figura 4.25 - Média da vida de prateleira (VP) para caldo de cana pasteurizado estocado sob refrigeração na ausência de luz.

Médias seguidas pela mesma letra não são diferentes ($P > 0,05$).

O teste de Tukey a 5% de significância revelou que não houve diferença entre as médias de VP estimadas para as amostras estocadas a 4 e 8°C.

Estes resultados contrariaram a expectativa do estudo, visto que a taxa de degradação de alimentos é, na maioria das vezes, incrementada com o aumento da temperatura de estocagem, impactando negativamente na VP. Portanto, os

resultados sugerem que a qualidade da bebida pode ser mantida a um nível satisfatório por um período de até 74 dias, quando estocada a 8°C, na ausência de luz.

Atribuiu-se, parcialmente, este resultado à participação de provadores não treinados e a eventuais transformações químicas e bioquímicas no caldo de cana estocado a 8°C que tenham resultado em uma aparência e um sabor mais atrativos aos provadores.

Um aspecto positivo que deve ser considerado refere-se à possibilidade de economia com a cadeia de frio, assumindo-se que o custo para refrigeração da bebida a 4 °C seja sensivelmente superior àquele para refrigeração a 8°C.

Kunitake (2012) estudou três binômios tempo x temperatura na estabilização de caldo de cana adicionado de 4 % de polpa de maracujá, refrigerado a 7°C. A autora descreve que os tempos de vida útil da bebida processada a 85, 90 e 95°C / 30 s atingiram 31, 39 e 52 dias, respectivamente. Nota-se que a VP média do presente estudo nas temperaturas de 4 e 8°C, o qual empregou o binômio 95°C/ 30 s, foi superior a encontrada pela referida autora.

4 CONCLUSÃO

Concluiu-se que o caldo de cana processado manteve-se microbiologicamente estável nas temperaturas de estocagem investigadas, ao longo do período de 75 dias, alcançando um tempo de vida de prateleira satisfatório, tendo em vista uma eventual comercialização do produto.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKED, J. In: KILCAST, P.; SUBRAMANIAM, P. **The stability and shelf-life of food**. New York: CRC Press LLC, 2000, cap. 11, p. 1-30.

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.

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

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Methods of analysis**. 16th ed. Arlington: AOAC, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução – RDC n.º 12, de 2 de janeiro de 2001**: Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm#>. Acesso em: 07 dez. 2013.

CHAUHAN, O. P. et al. Studies on preservation of sugarcane juice. **International Journal of Food Properties**, Philadelphia, v. 5, n. 1, p. 217–229, 2002.

DUTCOSKI, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Editora Universitária, Champagnat, 1996.123 p.

EGGLESTON, G. Deterioration of cane juice: sources and indicators. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 78, n. 1, p. 95-103, 2002.

FU, B. AND LABUZA, T. P. Shelf life prediction: theory and application. **Food Control**, Kidlington, v. 4, p. 125-133, 1993.

GERALDINI, A. M. et al. Caracterização de bactérias lácticas em alimentos. I. Avaliação de meios sólidos para contagens de culturas puras. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 16, n. 1, p. 53-64, 1979.

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 food products**. New York: CRC Press LLC, 2010. cap. 1, p. 3-12.

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY (IFST). **Shelf life of foods: guidelines for its determination and prediction**. London: Institute of Food Science & Technology, 1993.

KHARE, et al. Shelf life enhancement of sugarcane juice. **Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition**, Zagreb, v. 7, n. 3-4, p. 179-183, 2012.

KRISHNAKUMAR, T.; THAMILSELVI, C.; DEVADAS C. T. Effect of delayed extraction and storage on quality of sugarcane juice. **African Journal of Agricultural Research**, Victoria Island, p. 932-935, 2013.

MAO, L. C.; XU, Y. Q.; QUE, F. Maintaining the quality of sugarcane juice with blanching and ascorbic acid. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 104, p. 740–745, 2007.

MACEDO, J. A. B. **Métodos laboratoriais de análise físico-químico e microbiológicas**. Juiz de Fora: Jorge Macedo, 2001. p. 01-52

MORI, E. E. M. Determinação da vida-de-prateleira através da análise sensorial e correlações. In: MOURA, S. C. S. R. de; GERMER, S. P. M. **Manual do curso reações de transformação e vida-de-prateleira de alimentos processados**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2002. cap. 5.

OLIVEIRA, A. C. G. **Efeitos do processamento térmico e da radiação gama na estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de caldo de cana puro e adicionado de suco de frutas, armazenado sob refrigeração**. 2007.105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

PRATI, P. **Desenvolvimento de processo para estabilização de caldo de cana adicionado de sucos de frutas ácidas**. 2004. 169 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

PRATI, P.; MORETTI.; R. H.; CARDELLO, H. M. A. B. Elaboração de bebida composta por mistura de garapa parcialmente clarificada-estabilizada e sucos de frutas ácidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 147-152, 2005.

REZZADORI, K. **Pasteurização térmica e com membranas de caldo de cana adicionado de suco de maracujá**. 2010. 161 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. 536 p.

STONE, H.; SIDELL, J. L. **Sensory evaluation practices**. London: Academic Press, 1985. p. 202-226.

SUZART, C. A. G. **Desenvolvimento de tecnologia para estabilização física, sensorial e microbiológica de caldo de cana**. 2009. 138 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; BARBETTA, P. A. **Análise sensorial de alimentos**. Florianópolis: UFSC, 1987.

THOMAS, R. W. P. A microflora dos produtos engarrafados. **Engarrafador Moderno**, São Paulo, p. 69-74, 1996.

YASMIN, A.; MASSOD, S.; ABID, H. Biochemical analysis and sensory evaluation of naturally preserved sugarcane juice. **Pakistan Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, Lahore, v. 3, n. 43, p. 144-145, 2010.

CONCLUSÃO GERAL

As conclusões gerais deste estudo são:

- A padronização do *ratio* do caldo de cana é uma etapa que deve ser considerada na produção do produto, dada a variabilidade das características físico-químicas da matéria-prima;
- As formulações de caldo de cana investigadas no estudo alcançaram boa aceitação junto aos provadores, em uma ampla faixa de teor de sólidos solúveis e acidez titulável;
- A combinação de tecnologias aplicadas ao caldo de cana revelou-se promissora para micro e pequenas escalas de produção e eficiente, no que tange à estabilização da bebida;
- As temperaturas de estocagem investigadas (4, 8 e 12 °C) tiveram pouca influência na estabilidade microbiológica do produto, ao longo do período do estudo;
- O caldo de cana padronizado pasteurizado foi bem aceito e apresentou intenção de compra positiva pelos provadores.
- A produção do caldo de cana padronizado pasteurizado é viável por apresentar qualidade sanitária e sensorial positivas por um período de tempo de aproximadamente 75 dias.

SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS

As sugestões apresentadas para eventuais estudos futuros incluem:

- Adoção de testes sensoriais com provadores treinados (ADQ, por exemplo) para determinar a formulação de caldo de cana com melhor *ratio*;
- Combinação de tecnologias convencionais e não convencionais de processamento visando à estabilização do caldo de cana;
- Realização de testes piloto com sistemas de embalagem de alta barreira para estender a vida de prateleira do caldo de cana.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Modelo da ficha de avaliação sensorial utilizada no teste de formulações.

FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL DE CALDO DE CANA	
Nome: _____	Data: _____
Por favor, avalie a amostra de caldo de cana e indique, utilizando a escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou em termos globais.	
9. Gostei muitíssimo 8. Gostei muito 7. Gostei moderadamente 6. Gostei ligeiramente 5. Nem gostei/nem desgostei 4. Desgostei ligeiramente 3. Desgostei moderadamente 2. Desgostei muito 1. Desgostei muitíssimo	
AMOSTRA _____	Impressão global _____
Comentários: _____	

APÊNDICE B – Modelo da ficha de avaliação sensorial utilizada nos testes sensoriais de vida de prateleira e intenção de compra.

FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL DE CALDO DE CANA		
Nome: _____	Data: _____	
Por favor, avalie a amostra de caldo de cana e indique, utilizando a escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou em relação aos atributos indicados.		
9. Gostei muitíssimo 8. Gostei muito 7. Gostei moderadamente 6. Gostei ligeiramente 5. Nem gostei/nem desgostei 4. Desgostei ligeiramente 3. Desgostei moderadamente 2. Desgostei muito 1. Desgostei muitíssimo		
AMOSTRA _____	Aparência _____	Sabor _____
Se você encontrasse este produto no mercado:		
☐ Certamente compraria ☐ Provavelmente compraria ☐ Talvez compraria/talvez não compraria ☐ Provavelmente não compraria ☐ Certamente não compraria		
Comentários: _____		

APÊNDICE C – Imagens do processamento.

Cana-de-açúcar raspada e higienizada

Moagem

APÊNDICE D – Planta piloto utilizada no processamento do caldo de cana.

APÊNDICE E – Equipamento de descontaminação de embalagens e amostras sob refrigeração.

APÊNDICE F – Variação da cor ao longo da vida de prateleira (VP) das amostras de caldo de cana nas temperaturas de refrigeração.

<i>In natura</i>	Padronizado	Tempo zero	VP 6

VP 12	VP 18	VP 23	VP 32
Caldo de cana estocado a 12 °C.

<i>In natura</i>	Padronizado	Tempo zero	VP 32

VP 40	VP 49	VP 60	VP 67

VP 74			
Caldo de cana estocado a 8 °C.

<i>In natura</i>	Padronizado	Tempo zero	VP 32

VP 40	VP 49	VP 60	VP 67

VP 74	VP 83	VP 94	
Caldo de cana estocado a 4 °C.			