

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

Estabilidade das vitaminas A, C e E em gomas de gelatina

Telma Garcia

Dissertação para obtenção do grau de

MESTRE

Orientadora: Profª Titular Marilene De Vuono Camargo Penteado

São Paulo

2003

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos

Área de Bromatologia

Estabilidade das vitaminas A, C e E em gomas de gelatina

Telma Garcia

Dissertação para obtenção do grau de

MESTRE

Orientadora: Profª Titular Marilene De Vuono Camargo Penteado

São Paulo

2003

DEDALUS - Acervo - CQ



30100005662

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Garcia, Telma
G216e **Estabilidade das vitaminas A, C e E em gomas de gelatina /**
Telma Garcia. -- São Paulo, 2003.
96p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e
Nutrição Experimental.

Orientador: Penteadó, Marilene De Vuono Camargo

1. Vitamina A : Ciência dos alimentos 2. Vitamina C :
Ciência dos alimentos 3. Vitamina E : Ciência dos alimentos
4. Alimento : Análise : Ciência dos alimentos I. T. II.
Penteadó, Marilene De Vuono Camargo, orientador.

641.18 CDD

TELMA GARCIA

ESTABILIDADE DAS VITAMINAS A, C e E EM GOMAS DE GELATINA

Comissão Julgadora

da

Dissertação para obtenção do grau de MESTRE

**Prof^a Tit. Marilene De Vuono Camargo Penteado
orientador/presidente**

Prof^a Assoc. Ursula Maria Lanfer Marquez

Prof. Assoc. Ronaldo Pitombo

Prof. Dr. Flávio Finardi Filho

Dr^a. Mirna Sabino

São Paulo, 29 de setembro de 2003.

Dedico este trabalho...

Aos meus dois grandes amores: Jefferson e Maisa pela paciência e compreensão pelas horas não compartilhadas nestes três anos.

À Dora, minha sogra querida e à Maria, minha ajudante e segunda-mãe de Maisa, por cuidarem de minha filha por mim.

À meu pai, minha mãe e minha irmã, pelo apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de deixar registrado meus sinceros agradecimentos aos que com sua contribuição me ajudaram a transformar um sonho em realidade:

Minha orientadora Marilene de Vuono Camargo Penteado: pela competência, seriedade, senso crítico e disposição.

Minha amiga Elaine Pinto, que me ensinou as técnicas de cromatografia e a arte de ser paciente e confiante e também Magda Rios que me ajudou no início deste trabalho.

À empresa Leiner Davis pela disponibilização de recursos e por permitir minha ausência nos horários de trabalho e depois à Gelita do Brasil, que concordou com a seqüência do trabalho iniciado. Agradeço, em especial, à Denise Reis pela grande colaboração neste sentido.

À Ines, Paloma, Solange, Renata, Luzia e Fátima pela ajuda com os processamentos das gomas de gelatina e análises e Izilda com as figuras e escaneamentos.

À Luciana Galvão, da Roche, pelas amostras e análises das vitaminas, sugestões com as sobredosagens e cálculos para adição das vitaminas.

À empresa Didal por fornecer os sachês absorvedores de oxigênio.

Aos professores Ursula Maria Lanfer Marquez e Ronaldo Pitombo pelas valiosas sugestões de correções no exame de qualificação.

À Sandra Garcia, minha irmã, pela contribuição final com o equipamento e análise de atividade de água.

À Leila Bonadio pela revisão das referências bibliográficas consultadas.

Deus, obrigada por ter me dado coragem e ânimo para alcançar a minha meta.

SUMÁRIO

	Pág.
1- INTRODUÇÃO	1
2- REVISÃO DE LITERATURA	
2.1- GOMAS DE GELATINA	3
2.1.1. Gelatina	6
2.2- VITAMINAS A, C e E	
2.2.1. Vitamina A	8
2.2.2. Vitamina C	9
2.2.3. Vitamina E	10
2.3- FORTIFICAÇÃO DE ALIMENTOS COM VITAMINAS	12
2.4- ESTABILIDADE DAS VITAMINAS	15
2.4.1. Estabilidade da Vitamina A	17
2.4.2. Estabilidade da Vitamina C	18
2.4.3. Estabilidade da Vitamina E	20
2.4.4. Efeito do Processamento e Estocagem	21
2.5- VIDA-DE-PRATELEIRA	24
3- OBJETIVO	27
3.1- OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
4- MATERIAIS E MÉTODOS	
4.1- MATERIAIS	
4.1.1. Amostras de Gomas de Gelatina	29
4.1.2. Fortificação das Gomas de Gelatina	30
4.1.3. Ingredientes para o Preparo das Amostras	30
4.1.4. Reagentes	31
4.2- MÉTODOS	
4.2.1. Preparo das Amostras de Gomas de Gelatina	32
4.2.2. Métodos de Análise	35
4.2.2.1. pH das Gomas de Gelatina	35
4.2.2.2. Sólidos Totais das Gomas de Gelatina	35
4.2.2.3. Atividade de Água das Gomas de Gelatina	36
4.2.2.4. Textura das Gomas de Gelatina	36
4.2.2.5. Turbidez das Gomas de Gelatina	38
4.2.2.6. Cor das Gomas de Gelatina	38
4.2.2.7. Vitamina A e Vitamina E	42
4.2.2.8. Vitamina C	44

5- RESULTADOS	
5.1- pH, SÓLIDOS TOTAIS, TEXTURA, TURBIDEZ E COR	
5.1.1. pH e Sólidos das Gomas de Gelatina com e sem adição de Vitaminas	48
5.1.2. Textura das Gomas de Gelatina adicionadas ou não de Vitaminas	49
5.1.3. Turbidez das Gomas de Gelatina adicionadas ou não de Vitaminas	51
5.1.3.1. Turbidez das Gomas de Gelatina comparando-se Vitamina E 15%CC e Vitamina E 50% CWS	53
5.1.4. Cor das Gomas de Gelatina adicionadas ou não de Vitaminas	53
5.2- ANÁLISES DAS VITAMINAS	65
5.2.1. Padronização das Análises de Vitaminas	66
5.2.2. Estabilidade das Vitaminas no Processo	67
5.2.2.1. Influência da Temperatura de Adição das Vitaminas	69
5.2.2.2. Influência do Ácido Cítrico	72
5.2.3. Estabilidade das Vitaminas com o Tempo de Prateleira	74
5.2.3.1. Influência de Absorvedores de Oxigênio na Embalagem	82
6- CONCLUSÕES	83
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
8- RESUMO	95
9- SUMMARY	96

SUMÁRIO DAS TABELAS

	Pág.
TABELA 1 - Sensibilidade das vitaminas A, C e E a fatores externos	16
TABELA 2 - Formulação de gomas de gelatina com e sem vitaminas A, C e E	33
TABELA 3 - Formulação de gomas de gelatina com vitamina E 15% CC	35
TABELA 4 - Efeito da adição de vitaminas sobre os teores de pH e sólidos totais das caldas de gomas de gelatina antes do depósito nos moldes de amido	48
TABELA 5 - Efeito da adição de vitaminas na dureza das gomas de gelatina	50
TABELA 6 - Efeito da adição de vitaminas na turbidez instrumental e visual das gomas de gelatina	51
TABELA 7 - Turbidez instrumental e visual das gomas de gelatina com as vitaminas E do tipo 50% CWS e 15% CC	53
TABELA 8 - Cor instrumental ($L^*a^*b^*$) e visual das gomas de gelatina com o tempo de prateleira	56
TABELA 9 - Variação de ΔE^* das caldas de goma de gelatina com o tempo de prateleira	59
TABELA 10 - Avaliação visual da cor das gomas embaladas com e sem absorvedores de oxigênio	64
TABELA 11 - Perdas das vitaminas no processamento das gomas de gelatina	67

TABELA 12 - Concentrações das vitaminas A, C e E adicionadas a 70°C e 80°C e perdas médias com o aumento da temperatura	69
TABELA 13 - Concentrações das vitaminas A, C e E nas gomas de gelatina com e sem adição de 1,5% de ácido cítrico	72
TABELA 14 - Concentrações das vitaminas A, C e E com o tempo de prateleira e perda média na estocagem	75
TABELA 15 - Concentrações necessárias para alegação no rótulo e retenção para as vitaminas A, C e E	77

SUMÁRIO DAS FIGURAS

FIGURA 1	- Estrutura química do retinol	Pág. 8
FIGURA 2	- Estrutura química dos ácidos L-ascórbico e dehidroascórbico	10
FIGURA 3	- Estrutura dos homólogos da vitamina E	11

SUMÁRIO DOS QUADROS

QUADRO 1 - Classificação das leituras de cor em valores de $\Delta L^*a^*b^*$	Pág. 40
---	--------------------------

SUMÁRIO DAS FOTOS

	Pág.
FOTO 1 - TA-XT2, ponta de prova e plataforma utilizados para a análise de textura das gomas de gelatina	37
FOTO 2 - Turbidímetro e tubo com calda gelificada de goma de gelatina	38
FOTO 3 - Espectrofotômetro, aparato O. J. Holder e tubos de ensaio com calda gelificada	41
FOTO 4 - Efeito das vitaminas em gomas de gelatina após 6 meses de vida de prateleira	54
FOTO 5 - Efeito das vitaminas em gomas de gelatina após 1 ano de vida de prateleira	55
FOTO 6 - Efeito do absorvedor de oxigênio na coloração das gomas de gelatina após 6 meses	65

SUMÁRIO DOS GRÁFICOS

	Pág.
GRÁFICO 1 - Efeito das vitaminas sobre a dureza das gomas de gelatina	50
GRÁFICO 2 - Efeito da adição de vitaminas sobre a turbidez das gomas de gelatina	52
GRÁFICO 3 - Acompanhamento de Δa^* (coloração avermelhada) com o tempo de 6 meses	58
GRÁFICO 4 - Acompanhamento de Δb^* (coloração amarelada) com o tempo de 6 meses	58
GRÁFICO 5 - Acompanhamento de ΔL^* (luminosidade) com o tempo de 6 meses	58
GRÁFICO 6 - Efeito da temperatura na concentração de vitamina A	69
GRÁFICO 7 - Efeito da temperatura na concentração de vitamina C	70
GRÁFICO 8 - Efeito da temperatura na concentração de vitamina E	70
GRÁFICO 9 - Variação da concentração de vitamina A com o tempo de prateleira	76
GRÁFICO 10 - Variação da concentração de vitamina C com o tempo de prateleira	76
GRÁFICO 11 - Variação da concentração de vitamina E com o tempo de prateleira	76

1- INTRODUÇÃO

Segundo dados da ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CHOCOLATES, CACAU, BALAS E DERIVADOS (2003), o Brasil no ano de 2002 produziu 463.000 toneladas de balas e confeitos, não havendo entretanto dados disponíveis sobre a produção no setor específico de balas ou gomas de gelatina. As balas de goma representam cerca da metade das vendas de confeitos em países da Europa e Estados Unidos, e a sua popularidade continua a crescer. No Brasil, entretanto, confeitos deste tipo representam ainda uma pequena parcela das vendas, com grande potencial de crescimento. No mercado brasileiro a grande maioria das balas de goma são fabricadas à base de amido de milho e somente uma pequena parte é fabricada com gelatina (QUEIROZ, 1999).

O aumento da consciência da sociedade pela saúde, ao invés de afetar adversamente as vendas de confeitos, tem levado ao desenvolvimento de um setor totalmente novo, o dos doces mais saudáveis, que inclui produtos sem açúcar e uma gama de novos produtos fortificados ou itens dentro da categoria de confeitos funcionais. Esta tendência tem sido vista em todo o mundo, o que é citado em um relatório da indústria alimentícia, CONFECTIONERY (2000). A definição de um confeito funcional engloba os produtos com vitaminas, minerais e outros ingredientes com algum aspecto nutricional ou propriedade relacionada com a saúde (UNWRAPPING, 1999).

Os confeitos, que tem sido rotulados numa linguagem popular como “não muito bons para você”, “cheios de calorias vazias”, “destruidores dos dentes” e muitos outros termos negativos, têm uma grande chance de se redimir dando sua contribuição com produtos nutracêuticos. A idéia de confeitos serem funcionais não é nova. Os europeus têm produzido este tipo de produtos há anos, representando 7 a 8% das vendas totais de confeitos. Os confeitos nutracêuticos são mais populares na Alemanha, onde somam 7,3% de toda a venda de doces à base de açúcar em geral (NUTRACEUTICAL, 2000).

O desenvolvimento do mercado de confeitos fortificados e vitaminados varia consideravelmente de país para país, sendo o Japão o que de longe é o mais avançado em termos do número de produtos disponíveis e tipos de ingredientes benéficos utilizados. Contrastando com isto, em muitos outros países a fortificação destes itens ainda permanece limitada ao uso basicamente de vitaminas e minerais, como a vitamina C ou cálcio (PETTITT, 1999).

Existem razões para alguns fabricantes serem atraídos para os confeitos mais saudáveis: os benefícios para a saúde aumentam o apelo do produto e sua aceitação social, se relacionado ao estilo de vida moderno, criando uma imagem positiva para o produto e sua marca, além de aumentar a aceitação por consumidores que tipicamente não iriam consumi-lo. O mercado de "fortificados/vitaminados" ainda não está tão estabelecido como o de "sem açúcar" mostrando um grande potencial, pois o interesse por alimentos mais saudáveis nunca foi tão grande, associado ao fato de que as pessoas não têm tempo para preparar uma dieta balanceada. Dentro deste conceito encontram-se as gomas de mascar que têm sido usadas com sucesso como carreadoras de vitaminas e minerais (UNWRAPPING, 1999) e as balas duras que pela adição de zinco, cálcio, vitaminas e extratos vegetais têm se transformado num potente sistema para veicular ingredientes saudáveis revolucionando o mercado (HOLLINGSWORTH, 1999).

BUISSON (1999) relata que é possível adicionar nutracêuticos em vários produtos da categoria de doces ou confeitos. As pastilhas tipo comprimido seriam as mais fáceis, com uma larga capacidade para os ingredientes ativos. Nas balas duras, o tamanho pode ser facilmente controlado e a umidade é baixa, conseqüentemente as interações são minimizadas. As barras recobertas são a melhor base para as vitaminas lipossolúveis e também o tamanho para a dosagem é adequado. O problema está em outros produtos como as jujubas, um tipo de confeito gelificado, onde é difícil controlar com acuracidade o tamanho do doce. As balas mastigáveis e gomas do tipo macias,

têm umidade suficiente para fazer das interações dos ingredientes ativos, uma preocupação.

Muitos doces são relativamente estáveis durante a vida de prateleira e não requerem muita inovação. Entretanto, alguns produtos dentro desta tendência de nutracêuticos requerem proteção mais efetiva da embalagem principalmente contra oxigênio e umidade melhorando o "shelf-life" dos produtos feitos com óleos especiais, antioxidantes e carboidratos especiais (NUTRACEUTICAL, 2000; KATZ, 1998).

Quando se fortifica um produto com vitaminas é necessário assegurar a sua retenção nas várias etapas no processo, assim como durante toda a vida de prateleira. Para a incorporação de vitaminas com sucesso, deve-se ter conhecimento das suas propriedades físico-químicas, efetuar uma seleção apropriada das formas comerciais e avaliar os possíveis problemas organolépticos e suas soluções (PSZCZOLA, 1998b).

A instabilidade das vitaminas mostra a necessidade de sobredosá-las para assegurar os níveis requeridos pela legislação e declarados na embalagem. Os fornecedores de vitaminas fornecem níveis indicativos para sobredosagens dependendo de cada aplicação específica, mas não há na realidade um substituto para os testes de vida de prateleira (ANGUS, 1999).

2- REVISÃO DA LITERATURA

2.1- GOMAS DE GELATINA

Produtos chamados de Gomas, são uma grande classe de confeitos de baixa cocção com alto conteúdo de umidade (ao redor de 20% ou até mais alto), cuja textura varia dependendo do agente gelificante e ligante de água utilizado, que pode ser goma arábica, agar, gelatina, pectina e amidos especiais (QUEIROZ, 1999; WIENEN e KATZ, 1991; SWEETMAKER, 1981; JACKSON e LEES, 1973).

A escolha do hidrocolóide a ser empregado depende do tipo de confeito a ser produzido. Os fatores a serem considerados na sua seleção incluem a claridade do gel, mastigabilidade, tempo de gelificação, requerimentos de umidade e o tipo de molde para gelificação. Os hidrocolóides mais comumente utilizados são a gelatina, a pectina e o amido (WIENEN e KATZ, 1991).

As gomas de gelatina são uma grande classe dentro dos confeitos gelificados no qual a gelatina, agente gelificante e ingrediente-chave, fornece a estrutura e textura, além da transparência e brilho peculiares (GARCIA, 2000).

Estes confeitos são produzidos pela combinação de uma mistura de açúcares, normalmente um xarope de glucose e sacarose e soluções de gelatina, corante, aroma e ácido, que usualmente é o ácido cítrico (GARCIA, 2000; WIENEN e KATZ, 1991; POPPE, 1985).

O processo de fabricação das gomas de gelatina consiste basicamente em preparar uma solução de gelatina que será misturada com o xarope de açúcares, antes ou depois do cozimento, dependendo do processo e equipamentos disponíveis. O ar é eliminado pela aplicação de vácuo e então adiciona-se solução de ácido cítrico, aroma e corante. Este xarope final é processado em inúmeros formatos pelo depósito em moldes de amido, que depois são secos até atingirem um conteúdo final de umidade e textura adequados (POPPE, 1985; SWEETMAKER, 1981).

Portanto as etapas básicas de processamento são: cozimento, depósito ou moldagem, secagem, remoção dos moldes, limpeza, finalização e embalagem. Cozedores estáticos ("Static Cookers") são utilizados para a preparação das caldas das balas ou gomas de gelatina, cujo cozimento é efetuado sob pressão e o resfriamento em sistema à vácuo. Depois de receber aroma, corante e ácido da formulação o xarope final é depositado em moldes de amido que sofreram impressão no formato desejado através das plantas conhecidas como "Mogul". As bandejas com as gomas de gelatina seguem para a secagem, depois são desmoldadas, quando acontece a separação dos produtos e do amido e limpeza pela aplicação de ar comprimido e escovas.

Depois desta etapa as balas de gelatina recebem uma cobertura de óleo para o polimento e são acondicionadas (QUEIROZ, 1999).

Ao lado da textura, que pode variar de firme a macia, a boa claridade ou ausência de turbidez e a cor clara e brilhante são considerados fatores determinantes para a aceitação e preferência dos consumidores. Estes parâmetros de qualidade das gomas de gelatina dependem largamente dos tipos de ingredientes utilizados, das variáveis na formulação e como eles foram processados e manipulados (GARCIA, 2000).

A combinação dos ingredientes básicos da formulação assim como as condições de processo resultam em uma gama de texturas nestes doces. Existem muitos fatores que afetam a força de gel destes produtos e três variáveis podem ser consideradas como as mais importantes: a temperatura final de cozimento, conteúdo do hidrocolóide e agentes de doçura, como a dextrose equivalente (DE) dos xaropes de glucose empregados (WIENEN e KATZ, 1991).

De acordo com O'BRIEN e ROBERTON (1993), no processo de gomas feitas com pectina ou amido, as vitaminas devem ser adicionadas com o corante, aroma e ácido cítrico numa quantidade mínima de água, assim que a massa atingir a porcentagem desejada de sólidos finais. Os autores não recomendam adicionar o ácido ascórbico juntamente com o ácido cítrico da formulação de balas duras, pois a alta temperatura, acidez e tempo podem causar o escurecimento nestes produtos.

Em relação à estabilidade das vitaminas acredita-se que as etapas do processo e formulação das gomas de gelatina que podem contribuir para mudanças no seu conteúdo são o depósito, que segundo JACKSON e LEES (1973) é conduzido de 71°C a 82°C, e segundo SWEETMAKER (1981) ao redor de 60°C; a acidez; umidade e vida de prateleira que é de aproximadamente 4 meses (JACKSON e LEES, 1973); entretanto, encontram-se no mercado gomas de gelatina tradicionais com até 1 ano em comercialização.

As gomas de gelatina ainda não são fabricadas nas versões fortificadas com vitaminas no Brasil. Já existem produtos fabricados em outros países com a adição de vitaminas A, C e E, e gomas de gelatina vitaminadas são comercializadas nos Estados Unidos e Europa. A revista Kennedy's Confection registrou o lançamento de uma goma, de um dos maiores produtores de gomas de gelatina da Europa, onde adicionou-se vitaminas (A, C, E descritas na embalagem) além de proteínas e este produto foi destinado a esportistas (INNOVATION, 2001).

2.1.1. Gelatina

Gelatina é o produto parcialmente hidrolisado extraído do colágeno, a proteína estrutural nos tecidos conectivos, ossos e peles (WIENEN e KATZ, 1991). Estas matérias primas provenientes de bovinos ou suínos são processadas por lavagem, tratamento químico brando, extração em água quente, filtração, deionização, concentração e esterilização antes da secagem, resultando numa proteína animal altamente purificada. A gelatina contém aproximadamente 88% de proteína colagênica, cerca de 2% de sais minerais e o balanço restante é a umidade. Não contém gorduras, carboidratos, purinas ou colesterol (THE UNSUNG, 2000).

Durante o processo de extração o colágeno pode ser tratado com ácido ou álcali e as gelatinas resultantes possuem diferentes propriedades. Aquelas produzidas pelo tratamento ácido tem um ponto isoelétrico (pI) entre pH 7 e 9 enquanto as tratadas alcalinamente tem o pI entre pH 4,7 e 5,1 (WIENEN e KATZ, 1991). Gelatinas produzidas de pele de porco são normalmente processadas por tratamento ácido e designadas de gelatina tipo A e as de pele bovina por álcali e referidas como gelatina tipo B (DJAGNY, WANG e XU, 2001).

A gelatina é vendida pela sua força de gel, conhecida como "Bloom". Quando o Bloom aumenta a força de gel aumenta (QUEIROZ, 1999; WIENEN e KATZ, 1991). Além da sua propriedade gelificante, a gelatina tem sido utilizada

pela indústria alimentícia como agente clarificante, estabilizante e como material de proteção em coberturas. As aplicações alimentícias englobam sobremesas, doces, produtos de panificação, carnes gelificadas, sorvetes e laticínios (DJAGNY, WANG e XU, 2001).

Comparada a outras fontes protéicas, como ovos, leite e algumas plantas, a gelatina é freqüentemente mencionada por ter qualidades nutricionais inferiores e por ser uma proteína incompleta biologicamente, porque é deficiente em triptofano e limitante em metionina, que são aminoácidos essenciais (DJAGNY, WANG e XU, 2001; THE UNSUNG, 2000). Entretanto, na preparação de alimentos complementa os aminoácidos encontrados nas proteínas de cereais (THE UNSUNG, 2000). As proteínas de menor valor nutricional são normalmente mais baratas que as de maior valor biológico e estas podem ser usadas como substituição parcial de proteínas completas. A associação de 20% de gelatina hidrolisada, 27% de glúten e 53% de isolado protéico de soja podem substituir 42% do leite integral usado em formulações para o preparo de bebidas achocolatadas (CASTRO *et al.*, 2003; CASTRO, TIRAPGUI e SILVA, 2002).

A composição de aminoácidos da gelatina é específica com alta porcentagem de glicina (27%), prolina (16%), hidroxiprolina (14%), ácido glutâmico (12%) e arginina (10%). Todos estes aminoácidos não são essenciais, o que significa que eles podem ser sintetizados pelo nosso corpo. Entretanto, a síntese de aminoácidos como a prolina requer um dispêndio de grande energia celular, que é de significância para corpos altamente estressados, como os dos atletas e convalescentes (THE UNSUNG, 2000).

Hoje os benefícios da gelatina se estendem além da dietética e propriedades tecnológicas, com evidências crescentes que sugerem que a gelatina pode ajudar as pessoas nos casos de problemas articulares (THE UNSUNG, 2000). Os pesquisadores DJAGNY, WANG e XU (2001) citam em sua revisão que existem relatórios indicando os benefícios da gelatina no "turnover" ósseo e na saúde das juntas. MOSKOWITZ (2000) pesquisou os hidrolisados

de gelatina e concluiu que estes têm um potencial para o tratamento de osteoartrite e osteoporose. Usando hidrolisados de gelatina marcados com C^{14} em comparação com prolina marcada houve um acúmulo preferencial dos hidrolisados nas cartilagens, mostrando que este derivado do colágeno pode ter um efeito salutar no metabolismo das cartilagens. Quando associado à calcitonina inibiu mais a degradação do colágeno ósseo do que a calcitonina sozinha e neste estudo marcadores urinários foram usados para a medida desta degradação colagênica.

2.2- VITAMINAS A, C e E

2.2.1. Vitamina A

Vitamina A é o termo genérico para designar qualquer substância com estrutura de beta-ionona que tenha qualitativamente a atividade biológica do retinol (PENTEADO, 2003; GESTER, 1997).

A Figura 1 mostra a estrutura química do retinol (PENTEADO, 2003)

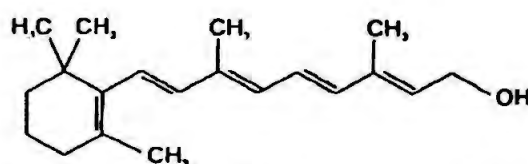


FIGURA 1: Estrutura química do retinol

A Vitamina A ocorre fisiologicamente como um álcool (retinol), um aldeído (retinaldeído) ou um éster (retinil éster). O termo vitamina A refere-se a estas substâncias que ocorrem naturalmente e também aos carotenóides (beta-caroteno, alfa caroteno e criptoxantina) ou pró-vitamina A, que são convertidos no intestino a retinol (GESTER, 1997; BASU e DICKERSON, 1996).

A vitamina A é um álcool primário de cadeia longa que ocorre em estado puro, como cristais amarelo-claro solúveis na maioria dos solventes orgânicos e em gorduras, podendo ser encontrada na forma de isômeros.

Ocorre largamente na natureza como retinol e na sua forma *all-trans*, que possui as seguintes características estruturais: um anel β -ionona, que é a cabeça hidrofóbica; uma cadeia lateral isoprenóide conjugada, que está sujeita a isomerização na presença de luz e um grupo terminal polar, que pode ser modificado enzimática ou quimicamente para se tornar um éster como no palmitato de retinol, ou num aldeído como no retinal ou pode ser oxidado a um metabólito polar como no ácido retinóico.

As formas comerciais obtidas por síntese aparecem na forma de retinil-acetato e retinil-palmitato-*todo-trans* (PENTEADO, 2003).

A vitamina A tem como principal função ser um cromóforo no processo visual; o retinol é oxidado primariamente ao seu metabólito mais importante, o retinal, que é o pigmento visual para a proteína rodopsina na retina. Parte do retinal pode ser oxidado a ácido retinóico, envolvido na diferenciação celular. A cegueira noturna é causada pela deficiência dietética do retinal (GESTER, 1997; BASU e DICKERSON, 1996; BLOOMHOOF, 1994).

A vitamina A além da visão, é também importante para a expressão de genes, reprodução, desenvolvimento embrionário, crescimento e função imune (PENTEADO, 2003).

2.2.2. Vitamina C

A vitamina C é o nome genérico dado ao ácido ascórbico (PENTEADO, 2003).

A vitamina C consiste essencialmente de dois compostos, o ácido L-ascórbico, um potente agente redutor, e seu derivado oxidado o ácido L-dehidroascórbico (BASU e DICKERSON, 1996). A Figura 2 mostra a estrutura química destes dois compostos (LEE e COATES, 1999).

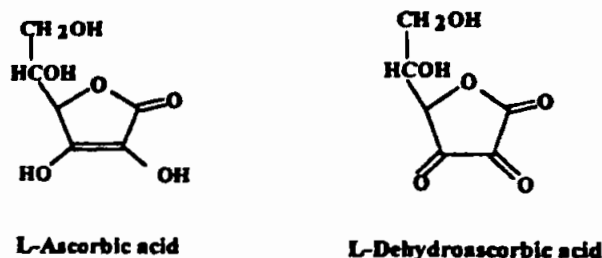


FIGURA 2: Estrutura química dos ácidos L-ascórbico e dehidroascórbico

Embora a maior parte da vitamina C nos fluidos corporais e tecidos esteja na sua forma reduzida, os dois ácidos possuem atividade biológica, e são interconvertíveis por enzimas através de uma reação de oxidação e redução (BASU e DICKERSON, 1996).

Além do ácido L-ascórbico, existem três outros estereoisômeros: ácido D-ascórbico, ácido D-isoascórbico e ácido L-isoascórbico, que apresentam muito pouca ou nenhuma atividade anti-escorbútica.

O ácido ascórbico está envolvido em muitas funções fisiológicas sendo uma delas a síntese do colágeno. Suas propriedades redutoras protegem os componentes celulares dos danos oxidativos e também se discute sua ação protetora contra doenças coronarianas e no desenvolvimento de tumores (PENTEADO, 2003; TSAO, 1997).

2.2.3. Vitamina E

A vitamina E é representada por uma família de compostos estruturalmente relacionados, oito dos quais são encontrados na natureza, sendo estes vitâmeros denominados de α -, β -, γ - e δ - tocoferóis e α -, β -, γ - e δ - tocotrienóis. Os tocoferóis diferem pelo número e posição dos grupos metil no anel de cromanol, sendo o α -tocoferol totalmente metilado, β - e γ -tocoferóis duplamente metilados, enquanto o δ - tocoferol possui somente um grupo metil. Os tocotrienóis têm a mesma estrutura básica dos tocoferóis, exceto pela presença de duplas ligações na cadeia lateral nos carbonos 3', 7' e 11'. A

Figura 3 mostra as estruturas dos homólogos da vitamina E (PENTEADO, 2003; BRAMLEY *et al.*, 2000).

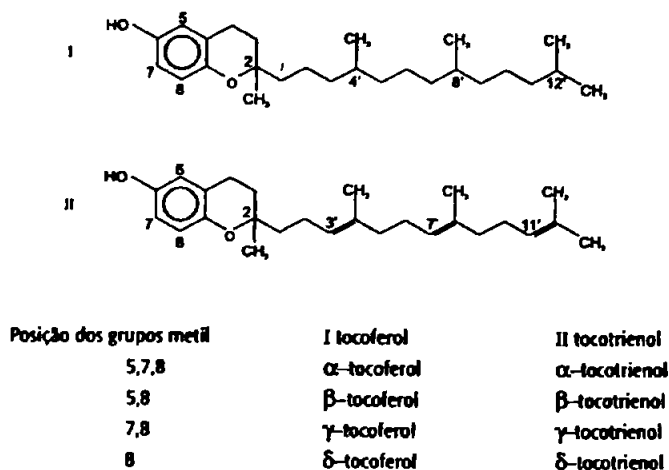


FIGURA 3: Estrutura dos homólogos da vitamina E

Os tocoferóis isolados de fontes naturais tem a configuração *RRR*- e são biologicamente mais ativos que os tocoferóis de fonte sintética, que são misturas dos oito estereoisômeros possíveis, ou *all-rac*-. O α -tocoferol natural é também designado de *d*- α -tocoferol ou *RRR*- α -tocoferol e o sintético de *dl*- α -tocoferol ou *all-rac*- α -tocoferol (PENTEADO, 2003).

O termo vitamina E é uma designação genérica dos oito compostos sintetizados pelas plantas e é usado para descrever todos os derivados de tocoferol e tocotrienóis que quantitativamente apresentam atividade biológica do α -tocoferol (BRAMLEY *et al.*, 2000; BASU e DICKERSON, 1996). Estes compostos são líquidos amarelos viscosos, insolúveis em água e facilmente solúveis em álcool, solventes orgânicos e óleos vegetais (BRAMLEY *et al.*, 2000; MACHLIN, 1991).

A cadeia lateral isoprenóide e o anel aromático (anel cromanol) tem sido implicados na função antioxidante da vitamina (BASU e DICKERSON, 1996).

Em humanos, sua deficiência não leva a uma desordem ou doença característica, mas estudos recentes sugerem que sua deficiência está associada com um elevado risco de arteriosclerose e outras doenças degenerativas (BRAMLEY *et al.*, 2000).

2.3- FORTIFICAÇÃO DE ALIMENTOS COM VITAMINAS

Muitos inquéritos nutricionais em países desenvolvidos e em desenvolvimento continuam a indicar que uma parcela apreciável da população sofre de deficiências de nutrientes. Nas nações desenvolvidas, o uso crescente de produtos dietéticos e de baixa energia, a tendência de consumo de menos calorias e a grande dependência de alimentos preparados, já são razões suficientes para reexaminar as políticas de adição de nutrientes em alimentos (RICHARDSON, 1993).

A adição de nutrientes segue as técnicas de fortificação ou enriquecimento, restauração, padronização e suplementação. A fortificação refere-se à adição de nutrientes a um alimento acima dos níveis normalmente encontrados neste alimento (RICHARDSON, 1993). Ainda para GREGORY III (1996) e WALTER (1994), além da definição acima dada para fortificação ou enriquecimento, é acrescentada a adição de um nutriente que não é encontrado naturalmente neste alimento.

Segundo PAIXÃO (1998), fortificação ou vitaminação é uma prática que visa adicionar especificamente qualquer nutriente ou somente vitaminas em alimentos processados que originalmente não os contém. O caso mais consistente de fortificação é a adição de vitaminas, aminoácidos e ferro em açúcar, confeitos e chocolates em barras e gomas de mascar, introduzido inicialmente na América Central e em outros países da América do Sul, inclusive no Brasil.

A adição de vitaminas e minerais têm sido também praticada para prevenir doenças na população causadas por sua deficiência. Por outro lado, a crescente preocupação pela maior ingestão de certos micronutrientes, pela sua

importância na redução dos riscos de doenças, tem levado a um aumento do número de produtos fortificados no mercado, mostrando-se como uma vantagem perante aos outros produtos não fortificados. O sucesso na adição de nutrientes aos alimentos requer considerações dos aspectos relacionados à legislação e também técnicos (ANGUS, 1999).

A fortificação de confeitos é uma área em crescimento para os consumidores que querem um algo mais além de calorias e prazer. Os produtos mais promissores a serem enfocados são aqueles que também combinam os substitutos de açúcares. Exemplos são as balas duras multivitaminadas, balas duras contendo altos níveis de vitamina C, balas mastigáveis e pastilhas (O'BRIEN e ROBERTON, 1993).

Os doces nutricionalmente melhorados podem apresentar alguns problemas potenciais quando comparados aos confeitos tradicionais e alguns pontos-chave devem ser considerados no seu desenvolvimento. Devem ser observados os aspectos sensoriais (sabor e textura), a estabilidade (deterioração por oxidação), a integridade microbiológica, questões regulatórias e de análises e a compatibilidade dos nutrientes adicionados com os ingredientes do produto (EYRES, 2000).

A deficiência de vitamina A é a mais comum das carências nutricionais no mundo (ELIZALDE, HERRERA e BUERA, 2002). E também existem estudos mostrando que a população americana não está consumindo as quantidades necessárias de vitaminas antioxidantes porque não comem frutas e vegetais. A melhor solução para resolver estes problemas de saúde pública seria fortificar alimentos com vitaminas antioxidantes, trazendo então o conceito de alimentos nutracêuticos e seus efeitos preventivos nas doenças cardiovasculares e câncer (ELLIOTT, 1999; WALTER, 1994).

ELLIOTT (1999) aponta que muitas doenças degenerativas do envelhecimento resultam da longa exposição à entidades químicas muito reativas chamadas radicais livres. Estes radicais livres são moléculas instáveis que têm um elétron não-pareado, tomando-os altamente energizados e

reativos. Procurando por elétrons, iniciam reações em cadeia que causam danos às células e DNA até que sejam extintos e retomem ao seu estado estável. Substâncias que são capazes de seqüestrar os radicais livres são chamadas de antioxidantes, pois estas previnem a oxidação causada por eles.

Existem muitas substâncias antioxidantes na natureza, mas as que têm este papel primário no organismo humano são a vitamina C, vitamina E e carotenóides. Muitos carotenóides, como β -caroteno, licopeno, luteína e zeaxantina são conhecidos por apresentarem propriedades antioxidantes, mas o β -caroteno tem sido o mais exaustivamente estudado. Coletivamente, vitamina C, E e β -caroteno são referenciados como vitaminas antioxidantes muito embora o β -caroteno não seja, estritamente falando, uma vitamina, mas uma pró-vitamina que se converte no organismo em vitamina A, quando necessário (BASU e DICKERSON, 1996).

Os retinóides, que incluem as formas de vitamina A que ocorrem naturalmente e seus vários análogos sintéticos, parecem ter além do seu papel na visão, envolvimento com o crescimento celular, reprodução, o sistema imune e a integridade das células epiteliais (GESTER, 1997; BASU e DICKERSON, 1996) e mais recentemente associados à respiração e regulação genética e na diferenciação celular (GESTER, 1997).

O papel fisiológico da vitamina E centra-se na sua habilidade de reagir e seqüestrar os radicais livres nas membranas e outros meios lipídicos, prevenindo os ácidos graxos poliinsaturados de serem destruídos pela oxidação lipídica (BRAMLEY *et al.*, 2000).

O maior efeito das vitaminas antioxidantes, como já mencionado, é o de remoção de radicais livres. As vitaminas antioxidantes, trabalham independentemente e sinergisticamente para prevenir ou retardar as reações oxidativas que levam com o tempo à doenças degenerativas, incluindo o câncer, doenças cardiovasculares, catarata e outras doenças (ELLIOTT, 1999).

Algumas evidências recentes sugerem que o ácido ascórbico pode ter um papel na prevenção de doenças do coração e câncer (SWIENTEK, 2000).

Outros estudos (CLAIMS, 1999) têm sugerido que os carotenóides e a vitamina E tomam parte na defesa do corpo auxiliando na prevenção dos processos degenerativos iniciados pelos radicais livres como o câncer e doenças do coração; entretanto, testes de intervenção não têm tido sucesso em provar o efeito de proteção. MORENO *et al.* (1994 e 1991) demonstraram o efeito protetor na fase de iniciação, ou quando administrado durante todo o período de experimentação, usando um modelo de hepato carcinogênese em ratos, e outros estudos relacionando carotenóides e câncer foram estabelecidos por RIZZI *et al.* (1998 e 1997).

Estudos de PSZCZOLA (1998a) têm mostrado que a vitamina E, pode ajudar na manutenção da saúde do coração por impedir que o oxigênio no sangue se combine com as lipoproteínas do colesterol de baixa densidade.

Segundo ANGUS (1999) a vitamina A e C tem mostrado promover benefícios à saúde como auxiliadoras na prevenção de infecções.

Segundo SWIENTEK (2000) a vitamina C é uma escolha popular para o propósito de fortificação e é percebida pelos consumidores por ter efeitos na saúde em termos de prevenção de resfriados.

Com os resultados das pesquisas mostrando a ação preventiva das vitaminas antioxidantes nas doenças cardiovasculares e no câncer os valores estipulados de ingestão necessárias terão de ser revistos e alimentos fortificados com vitaminas ou até suplementos vitamínicos vão ser necessários para preencher as nossas necessidades e se tomarão importantes para os grupos de risco (WALTER, 1994).

2.4- ESTABILIDADE DAS VITAMINAS

Uma ampla variedade de vitaminas encontra-se disponível para comercialização com o propósito de fortificação. As vitaminas, entretanto, são relativamente instáveis e muitos fatores podem afetar sua estabilidade em

alimentos incluindo temperatura, pH, oxidantes, agentes catalisadores, enzimas e luz (SWIENTEK, 2000).

Com a natureza variável das vitaminas, a possibilidade de cada combinação das vitaminas adicionadas interagindo de maneiras diferentes na matriz alimentícia, o número infinito de modos de preparação, cozimento e estocagem dos alimentos, é virtualmente impossível generalizar os efeitos dos fatores individuais na estabilidade.

PENTEADO (2003) e RICHARDSON (1993), exemplificam de uma maneira geral os fatores que influenciam a estabilidade das vitaminas e suas retenções em alimentos e estes são a temperatura, atividade de água, pH, oxigênio, luz, catalisadores, enzimas, inibidores, interações, energia e tempo.

Segundo OTTAWAY (1993), os fatores mais importantes que influenciam a degradação das vitaminas são o calor, umidade, oxigênio, pH e luz. As perdas podem ocorrer durante o processamento e preparação dos ingredientes e alimentos. A Tabela 1 apresenta o efeito de alguns fatores externos sobre as vitaminas A, C e E, mencionados por GREGORY III (1996) e RICHARDSON (1993).

TABELA 1: Sensibilidade das vitaminas A, C e E a fatores externos

Vitamina	Aquecimento	Oxigênio	Luz	pH		
				<7	7	>7
A	-	-	-	-	+	+
C	-	-	-	+	-	-
E	-(+)	-(+)	-(+)	+(+)	+(+)	+(+)

+, Estável ; -, Instável; (+), Esterificada como acetato de tocoferila

Algumas vitaminas estão disponíveis em formas mais estabilizadas e encapsuladas para melhorar a retenção nos alimentos processados (RICHARDSON, 1993). Os fabricantes de vitaminas obviamente conhecem as características de estabilidade das vitaminas e podem ajudar, oferecendo vitaminas em formas protegidas e mais estáveis (O'BRIEN e ROBERTON,

1993). Tanto o tocoferol como o retinol são encontrados na forma de acetato, que é a forma esterificada. Formas que se dispersam na água são fabricadas por "spray drying" e a matriz destes pós é feita de gelatina e sacarose. As ligações cruzadas da gelatina, proporcionam uma cobertura mais durável e resistente (BRAMLEY *et al.*, 2000; KILLEIT, 1994).

2.4.1. Estabilidade da Vitamina A

A vitamina A é bastante sensível ao oxigênio, à luz, ao calor e à acidez (PENTEADO, 2003; PRADO, CHANDRA e BICALHO, 1995). BASU e DICKERSON (1996) confirmam que a molécula de *all-trans* retinol, por causa de sua configuração estrutural, está sujeita à oxidação pelo ar e se isomeriza quando exposta à luz, sendo a oxidação a causa mais importante de sua destruição; entretanto, relatam que a vitamina A é geralmente estável ao aquecimento, ácido e alcali e conseqüentemente os vários métodos de cocção tem muito pouco efeito nas perdas desta vitamina, o que é também confirmado por OTTAWAY (1993) que descreve o éster de palmitato como mais estável que o retinol quando expostos ao aquecimento. Entretanto, o aquecimento pode causar estereoisomerização (BALL, 1998).

O retinol é usualmente adicionado aos alimentos na forma de palmitato ou acetato de retinila, que freqüentemente contém uma camada protetora por causa da sua sensibilidade ao oxigênio e estas formas da vitamina A são mais estáveis que o retinol. Estas preparações também contém um antioxidante, que normalmente é o tocoferol (CLAIMS, 1999; BALL, 1998; OTTAWAY, 1993).

O retinol e seus derivados são altamente instáveis na presença de oxigênio. A luz catalisa a isomerização de duplas ligações da maioria dos retinóides. Com luz de mais alta intensidade, outras reações fotoquímicas mais drásticas acontecem levando a dimerização e formação de polímeros (BLOMHOFF, 1994). Segundo BALL (1998) o retinol é oxidado pelo oxigênio molecular e resulta em produtos de oxidação como o 5,6-epóxido e 5,8-furanóxido.

OTTAWAY (1993), descreve a vitamina A como uma das vitaminas mais lábeis. A presença de duplas ligações na sua estrutura a torna susceptível à isomerização, particularmente a pH ácido e em meio aquoso. O isômero com atividade biológica mais alta é a vitamina A *all-trans*. O isômero predominante é o *13-cis*, mas outros isômeros como o *6-cis* e *2,6-di-cis* também podem se formar durante a isomerização e também possuem atividade biológica, porém inferior ao *all-trans*.

Em meio alcalino, entretanto, a vitamina A é relativamente estável (BALL, 1998; OTTAWAY, 1993).

2.4.2. Estabilidade da Vitamina C

Comercialmente a vitamina C está disponível como ácido ascórbico e também na forma de sais de ascorbato de sódio e cálcio (OTTAWAY, 1993).

Ácido ascórbico e ascorbato de sódio são solúveis em água. Problemas de instabilidade inerentes à vitamina C ocorrem, sendo sensível à luz, oxigênio e temperatura. A oxidação é catalisada por metais, luz, alcali e aquecimento (SWIENTEK, 2000; ELLIOTT, 1999; BASU e DICKERSON, 1996; PRADO, CHANDRA e BICALHO, 1995).

Na forma cristalina é relativamente estável em ar seco, mas instável na presença de umidade ao passo que em soluções aquosas é prontamente oxidada.

O ácido ascórbico é a forma enólica do 3-ceto-1-gulofuranolactona. Os grupos enediol no C-2 e C-3 são sensíveis à oxidação e podem ser facilmente convertidos a um grupo diceto. O composto resultante, o ácido L-dehidroascórbico também tem atividade de vitamina C e esta conversão é reversível (OTTAWAY, 1993).

O mecanismo de degradação do ácido ascórbico é específico para cada sistema particular e depende de vários fatores, podendo seguir duas rotas distintas, a aeróbica ou anaeróbica.

Aerobicamente, a oxidação pode ou não ser catalisada por metais, levando à formação de produtos intermediários com subsequente formação de ácido dehidroascórbico, que posteriormente em mais uma etapa de degradação irreversível, pela abertura do anel de lactona, forma ácido 2,3-dicetogulônico, que é oxidado a ácido oxálico e ácido L-treônico (VIEIRA, TEIXEIRA e SILVA, 2000; BASU e DICKERSON, 1996; MOSER e BENDICH, 1991; ESKIN, 1990). Em condições ácidas, a degradação procede com a formação de ácido L-tartárico, furfural e outros derivados do furano. A degradação catalisada em condições básicas resulta em mais de 50 compostos, principalmente ácidos mono, di e tri-carboxílicos (MOSER e BENDICH, 1991).

Na rota anaeróbica o ácido ascórbico sofre cetonização com formação de intermediários (ácido cetoascórbico e ácido ceto-mono ânion ascórbico) que após delactonização formam o ácido 2,3-dicetogulônico (VIEIRA, TEIXEIRA e SILVA, 2000).

Pesquisas têm mostrado que a estabilidade do ácido ascórbico varia em produtos como sucos de frutas de acordo com o conteúdo de oxigênio da solução e o efeito do oxigênio dissolvido é muito significativo. Como 11,2 mg de ácido ascórbico são oxidados por 1,0 mg de oxigênio, 75 a 100 mg de ácido ascórbico podem ser destruídos por 1 litro de suco. Estágios de tratamento com vácuo são normalmente adicionados ao processo para desaerar a solução e eliminar o problema. É também importante controlar os espaços vazios em recipientes líquidos com ácido ascórbico adicionado, pois 3,3mg podem ser destruídos por oxigênio em 1cm³ de ar (OTTAWAY, 1993).

A cisteína e o EDTA tem sido efetivos na inibição da oxidação do ácido ascórbico.

A taxa de degradação do ácido ascórbico em soluções aquosas é dependente do pH com taxa máxima em pH 4,0.

Para o leite, luzes, tanto na forma solar como fluorescentes, podem ter um efeito sobre a estabilidade da vitamina C e a sua destruição durante o processamento ou cozimento também são consideráveis. Durante a

pasteurização perde-se 25%, esterilização 60% e até 100% nos processos de UHT estocados por 3 meses. O leite pasteurizado fervido pode mostrar perdas entre 30 a 70%.

Grandes perdas de vitamina C foram observadas após cozimento e estocagem de vegetais e frutas. Desidratação de batatas pode causar perdas entre 35 a 45% (OTTAWAY, 1993).

A instabilidade da vitamina C ao aquecimento da solução e ao oxigênio é um fator a ser considerado no processamento das gomas de gelatina, onde a temperatura da calda final atinge temperaturas de 60 a 80°C e o processamento e embalagem permitem o contato com o oxigênio.

A encapsulação da vitamina C, oferece muitas oportunidades interessantes segundo PSZCZOLA (1998a), especialmente onde calor e estabilidade na vida de prateleira podem ter um grande impacto na sua manutenção no alimento.

2.4.3. Estabilidade da Vitamina E

Como resultado de sua atividade antioxidante, os tocoferóis e tocotrienóis estão eles mesmos sujeitos à destruição por oxigênio dando origem a um número de produtos incluindo tocoferil quinonas e tocoferil hidroxiquinonas, tocoperóxidos, dímeros e trímeros e epóxidos. Este processo é acelerado pela luz, calor, álcali e metais como ferro (Fe^{3+}) e cobre (Cu^{2+}) (BRAMLEY *et al.*, 2000; GREGORY III, 1996; MACHLIN, 1991).

A vitamina E na sua forma de acetato é mais estável ao aquecimento e oxidação do que a vitamina C. O acetato *dl*- α -tocoferil é muito estável, exceto em pH extremos e o *dl*- α -tocoferol é sensível à oxidação que é catalisada por aquecimento e íons metálicos (BRAMLEY *et al.*, 2000; ELLIOTT, 1999). Normalmente, devido ao fato dos ésteres serem muito mais estáveis na presença de oxigênio, os tocoferóis são usualmente comercializados como um éster de acetato (MACHLIN, 1991). OTTAWAY (1993), cita que o acetato de *dl*-

α -tocoferila é relativamente estável ao ar, mas é hidrolisado a tocoferol livre pela umidade na presença de álcali ou ácidos fortes.

Na ausência de oxigênio os tocoferóis são estáveis ao aquecimento e álcalis e não são afetados por ácidos até temperaturas de 100°C. Já o α -tocoferol é prontamente oxidado e degradado pelo aquecimento se na presença de ar (OTTAWAY, 1993; MACHLIN, 1991).

Existe uma diferença considerável na estabilidade das formas de vitamina E que ocorrem naturalmente (tocoferol) e os ésteres de tocoferila. Enquanto a vitamina E é referida como uma das mais estáveis das vitaminas, o tocoferol, que não é esterificado, é menos estável devido a um grupo hidroxil fenólico livre (OTTAWAY, 1993).

2.4.4. Efeito do Processamento e Estocagem

Muitos produtos são enriquecidos com vitaminas e a sua degradação pode se tornar um fator limitante na vida de prateleira. Diversos fatores comprometem a estabilidade destes micronutrientes os quais incluem oxigênio, pH, luz, temperatura e conteúdo de umidade ou atividade de água (Aa), presença de sais e açúcares. Entretanto, em alimentos embalados, armazenados, os maiores fatores que podem afetar as reações degradativas são a temperatura de armazenamento e a atividade de água do produto (PRADO, CHANDRA e BICALHO, 1995)

As perdas de vitamina C em um alimento são grandemente afetadas pela atividade de água, sendo que aumentando-se esta tem-se um aumento nas perdas desta vitamina. Estudos apontados por PRADO, CHANDRA e BICALHO (1995) indicam que independentemente do material da embalagem a vitamina C é significativamente destruída durante a estocagem. A degradação do ácido ascórbico ocorre na presença de oxigênio e esta reação é influenciada pela temperatura. EISON-PERCHONOK e DOWNES (1982) mencionam que a

oxidação do ácido ascórbico é dependente da concentração de oxigênio dissolvido, mostrando a importância de se monitorar o oxigênio e a temperatura.

BRAMLEY *et al.* (2000) comentam que a estocagem de vegetais sob baixo teor de oxigênio inibe a queda do ácido ascórbico.

Um exemplo de como o processo pode afetar a estabilidade de ascorbatos em bebidas é mencionado por ELLIOTT (1999). Para reduzir os danos provocados pela oxidação é melhor usar equipamentos de aço inox, alumínio ou plástico e evitar a contaminação com cobre, ferro, bronze ou latão. A remoção de ar do produto também ajuda através da minimização do espaço livre no enchimento. O aquecimento deve ser rápido e o produto deve ser protegido da energia radiante. Adiciona-se ascorbato em excesso para remover o excesso de oxigênio (3,4mg reage com 1cm³ de O₂) e as garrafas ter permeabilidade reduzida ao oxigênio. O principal objetivo é minimizar o contato com oxigênio ou metais pró-oxidantes durante o processo e a transferência de oxigênio pela embalagem.

As perdas de nutrientes em processamentos, ocorrem por tratamentos físicos, químicos e biológicos. Perdas de vitamina C no leite in natura pasteurizado e esterilizado podem chegar até 50% e decorrem da reação de Maillard (açúcares redutores, aminoácidos, vitaminas e micronutrientes como ferro e cobre). Vitaminas A e D também são perdidas ao redor de 10% quando comparadas à matéria prima original (PRADO, CHANDRA e BICALHO, 1995).

Em outro trabalho (VITAMINS, 1999) é relatado o efeito da luz, não somente a do sol, como também dos "displays" na perda de vitaminas em leite. Foi verificada uma perda de 50% no conteúdo de vitamina A em seis horas de exposição à luz fluorescente. Com o uso de uma embalagem opaca esta perda é reduzida significativamente. Vitamina A adicionada ao leite é mais foto-sensível do que a natural, apresentando uma perda em recipientes claros de 70% quando expostos à luz durante o transporte e no "display". Foi demonstrado também que a vitamina C, é relativamente instável mesmo no escuro com uma perda de 50% em 4 dias. Quando exposta à luz em recipientes

de vidro esta perda sobe para 95% no mesmo período, decrescendo para 70% no caso de embalagem cartonada. BIANCHINI e PENTEADO (1999), encontraram analisando diversas marcas de leites esterilizados enriquecidos com vitamina A e E, teores abaixo do declarado no rótulo em duas marcas.

Os tocoferóis são perdidos durante a estocagem. Um exemplo são farinhas estocadas a 37°C por 80 dias onde houve perda de 50% no seu conteúdo para farinhas brancas e integrais e de 25% de perda para gérmen de trigo. Quando estocados por 1 ano a 20°C os resultados de perdas foram 40% para farinha integral e gérmen de trigo enquanto para farinha branca a perda foi de 38% (BRAMLEY *et al.*, 2000). VIDAL-VALVERDE e RUIZ (1993), acompanharam a estabilidade do α -tocoferol em leites processados com temperatura ultra alta (UHT) e esta variou significativamente com o tempo de estocagem, verificando em um tipo de leite perda de 19% quando estocado por 3 meses e em outro tipo de 52% quando estocado a 40°C.

Problemas de sabor, transparência e cor também podem ser encontrados utilizando-se as formas comerciais de vitaminas antioxidantes. O β -caroteno e vitamina E na forma de pó para a aplicação em sistemas aquosos podem gerar turbidez em bebidas transparentes. A vitamina C é muito ácida quando aplicada em altas dosagens na forma de ácido ascórbico e uma maneira de tentar minimizar este problema seria mesclar com ascorbato de sódio. O β -caroteno fornece uma coloração de amarelo para alaranjado (ELLIOTT, 1999). Estes efeitos podem afetar a qualidade de gomas de gelatina fortificadas com estas vitaminas e estes fatores devem ser estudados. Seguindo recomendação de fabricantes como a Roche, aconselha-se não adicionar o β -caroteno nas gomas de gelatina por deixar o meio alaranjado, e sim, o acetato de retinila (buscando-se adicionar vitamina A). Existem hoje também no mercado novas formas de vitamina E para a aplicação em sucos buscando solucionar o problema de turbidez apontado acima. Quanto à acidez sensorial acentuada fornecida pelo ácido ascórbico, acredita-se que isto não venha a ser

um problema visto que as gomas de gelatina são produtos essencialmente ácidos e comercializados em aromas frutais.

ANGUS (1999) relata que a estabilidade variada das vitaminas significa que o tecnologista vai necessitar dosar em excesso para assegurar os níveis requeridos pela legislação e declarados na embalagem. Os fornecedores de vitaminas, entretanto, podem dar assistência fornecendo os níveis de sobredosagens requeridas para cada aplicação específica, mas não há na realidade um substituto para os testes de vida de prateleira.

A adição de vitaminas durante a manufatura de confeitos é uma operação muito simples, sem muitas dificuldades, apesar de alguns tipos de confeitos requererem manuseio cuidadoso e o tempo certo para a adição das vitaminas. As perdas de vitaminas durante o processo nos diferentes tipos de confeitos varia consideravelmente e as sobredosagens cobrem as perdas no processamento e estocagem.

A fortificação de confeitos com vitaminas deve levar em consideração fatores como a faixa de pH, conteúdo de umidade, temperatura de processo e variáveis de mistura (O'BRIEN e ROBERTON, 1993).

2.5- VIDA-DE-PRATELEIRA

Entende-se por vida-de-prateleira o tempo no qual um produto estará seguro para consumo, mantendo seus atributos de qualidade desejáveis, tanto os sensoriais, químicos, físicos e microbiológicos, como também obedecendo às declarações do rótulo no que diz respeito a valores nutricionais (VISSOTTO e JARDIM, 1999).

Dentre as várias reações de transformação que ocorrem nos alimentos, cita-se a degradação de vitaminas, mudanças de cor e alterações sensoriais. A vida-de-prateleira de um alimento, depende, além da sua própria formulação, de fatores de processamento e embalagem. O processamento deve inibir as reações de deterioração e a embalagem deve ser definida em função das características do produto de acordo com parâmetros como luz, temperatura,

umidade relativa e danos mecânicos (PENTEADO, 2003; VISSOTTO e JARDIM, 1999).

A perda de qualidade de balas e confeitos de goma está associada a processos físicos e químicos desencadeados, principalmente, pela exposição do produto à luz, alteração de umidade, absorção de odores do ambiente e da embalagem, perda de aroma para o ambiente, crescimento de bolores e leveduras, danos mecânicos, infestação por insetos e roedores. O fator de maior influência na vida-de-prateleira de balas e confeitos de gomas é o teor de umidade. O ganho ou perda de umidade pelo produto provoca alterações indesejáveis na textura. As gomas apresentam uma atividade de água média de 0,60 e em ambientes com umidade relativa entre 50 a 65% tendem a absorver água e isto pode causar o crescimento de bolores e leveduras (COLTRO, 1999).

A principal causa de descoloração das balas durante o armazenamento deve-se ao efeito da luz. O emprego de embalagens que sejam barreira completa à luz é geralmente indesejável, uma vez que a atratividade da bala de coloração viva, e no caso específico de gomas de gelatina, a claridade e brilho, são pontos importantes na venda (COLTRO, 1999).

As embalagens para balas devem ser barreira ao vapor d'água, luz e aromas e o tipo de embalagem necessário para proteger as balas da absorção de umidade depende da atividade de água do produto e da umidade relativa do ambiente, e se a deterioração da bala ocorre pelo ganho ou perda de umidade sob estas condições. Os materiais plásticos mais utilizados na confecção de embalagens de balas e derivados, são, atualmente, o polipropileno (PP), polipropileno biorientado (BOPP), BOPP metalizado, policloreto de vinila (PVC) e polietileno de baixa densidade (PEBD). Estes materiais são utilizados como embalagens rígidas ou flexíveis, na forma de filme simples (monocamada) ou laminado (combinação de diversos materiais plásticos entre si, ao alumínio e/ou papel), Outro material polimérico utilizado para o acondicionamento de balas e derivados é a celulose regenerada ou celofane. A especificação adequada da

embalagem plástica permite obter as características e propriedades desejadas, tais como opacidade no caso de não se desejar incidência de luz, barreira a umidade e gases ou permeabilidade controlada, resistência à umidade ou solubilidade em água, bom desempenho à alta e/ou baixa temperatura (COLTRO, 1999).

Os fabricantes de alimentos declaram nas embalagens de seus produtos o conteúdo de vitaminas, e como um grupo, as vitaminas são os únicos nutrientes que apresentam mudanças quantitativas significantes durante a estocagem (OTTAWAY, 1993).

O uso das vitaminas para o enriquecimento ou fortificação dos produtos alimentícios possui um número de problemas tecnológicos. Se mais de uma vitamina é usada é altamente provável que a taxa de degradação de cada vitamina vai diferir significativamente; e se as quantidades destes micronutrientes são incluídas na informação nutricional no rótulo, a vida de prateleira do produto é determinada pelo componente mais instável. Para estar de acordo com os requisitos legais e manter as alegações do rótulo por toda a vida de prateleira ou "shelf life", é necessário estimar com certa acuracidade a estabilidade das várias vitaminas adicionadas à formulação. Isto tem que ser feito no contexto do sistema alimentício, na embalagem e nas condições prováveis de estocagem (OTTAWAY, 1993).

Os níveis das vitaminas mais instáveis devem ser ajustados acima do valor declarado para assegurar que as informações nutricionais do rótulo serão atingidas no final do "shelf life" definido para o produto. Estes aumentos sobre os valores declarados são chamados de sobredosagens que são a diferença entre o nível formulado e o nível declarado (OTTAWAY, 1993).

As sobredosagens são normalmente expressas como a percentagem do nível declarado e são calculadas como:

$$\frac{\text{Quantidade de vitamina presente no produto} - \text{Quantidade declarada}}{\text{Quantidade declarada}} \times 100$$

Quantidade declarada no rótulo

Assim se o nível inicial usado de vitamina C foi de 45 mg e o nível declarado é 30 mg, têm-se uma sobredosagem de 50%.

A estabilidade da vitamina no alimento e a duração requerida da vida de prateleira vão governar as sobredosagens selecionadas. A experiência tem mostrado que as vitaminas mais instáveis como as vitaminas C, A e B₁₂, geralmente requerem maiores sobredosagens, enquanto que as inerentemente mais estáveis como a niacina e vitamina E vão necessitar de pequenas sobredosagens (OTTAWAY, 1993).

Algumas sobredosagens típicas usadas para cobrir perdas no processo e armazenamento foram descritas por ELLIOTT (1999) sendo que em bebidas aconselha-se de 40 a 200 vezes para vitamina C e de 10 a 25 vezes para vitamina E. Estes níveis entretanto podem ser mais altos ou mais baixos, dependendo das condições específicas e particulares aplicadas durante o processo e estocagem do produto.

O único meio de confirmar com acuracidade as sobredosagens definidas, seguindo sugestão do fabricante ou referências em literatura, é adicionando as vitaminas no alimento e avaliando-as imediatamente após o processamento e em intervalos regulares durante o tempo efetivo de uso, permitindo um ajuste fino nas quantidades necessárias de cada vitamina (O'BRIEN e ROBERTON, 1993).

3- OBJETIVO

Verificar a estabilidade das vitaminas A, C e E em gomas de gelatina no processo de fabricação e durante a vida de prateleira.

3.1- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Acompanhar o efeito das vitaminas A, C e E sobre a turbidez e textura das gomas de gelatina após processamento assim como na cor durante um período de 6 meses da vida de prateleira.
- Estudar o efeito da temperatura de depósito de gomas de gelatina a 70°C e a 80°C, na estabilidade das vitaminas A, C e E.
- Estudar o efeito da vitamina E ("dry vitamin E" 15% CC) sobre a turbidez da goma de gelatina.
- Estudar o efeito da ausência do ácido cítrico, em comparação à sua presença, sobre a estabilidade das vitaminas A, C e E aplicadas nas gomas de gelatina após processamento.
- Acompanhar o efeito visual do emprego de gelatinas tipo A e B e uso de absorvedores de oxigênio sobre o escurecimento das gomas de gelatina por um período de 6 meses da vida de prateleira.
- Avaliar o efeito da presença de absorvedores de oxigênio sobre a vitamina C após estocagem de 6 meses.
- Verificar se as sobredosagens sugeridas pelo fabricante de vitaminas são adequadas para este tipo de aplicação durante 6 meses da vida de prateleira.

4- MATERIAIS E MÉTODOS

4.1- MATERIAIS

4.1.1. Amostras de Gomas de Gelatina

As gomas de gelatina foram preparadas em processamentos de 500g ou 1000g, com e sem vitaminas A, C e E, conforme formulação e procedimentos indicados por Gelita do Brasil para sua manufatura, segundo processo tradicional de depósito em moldes de amido.

Gomas de gelatina de fabricantes dos Estados Unidos e Europa foram utilizadas para análise de pH e sólidos finais e somente as gomas da Europa foram acompanhadas quanto ao escurecimento da coloração do produto com o tempo de prateleira.

- a. Gomas de gelatina do fabricante (1) dos EUA com suco de frutas e o rótulo do produto contém a declaração que é alta fonte de vitaminas C&E (contendo 25% da IDR por porção, que naquele país corresponde a 30g ou 13 gomas).
 - b. Gomas de gelatina do fabricante (2) dos EUA contém declaração no rótulo que o produto é alta fonte de vitaminas C, E e beta caroteno.
 - c. Gomas de gelatina com vitaminas e minerais do fabricante (3) europeu contém no rótulo declaração da presença das vitaminas E, C, niacina, vitamina B6, folato, biotina e pantotenato. 100g de goma contém 60mg de vitamina C e 10mg de vitamina E o que corresponde a 100% das necessidades diárias. O pacote apresenta 200g de gomas.
-

4.1.2. Fortificação das Gomas de Gelatina

Para a fortificação das gomas de gelatina utilizou-se amostras de vitaminas A, C e E fabricadas por F. Hoffmann-La Roche, Ltda.

Para a vitamina A foi utilizado "dry vitamin A acetate, type 325 CWS/F", um acetato de retinila *all-trans*, contendo 97500 µg de retinol por grama. O acetato de retinila em solução oleosa é finamente disperso em uma matriz aquosa de amido, gelatina e sacarose e *dl-α*-tocoferol é adicionado como antioxidante (10mg/1g de vitamina A).

Para a vitamina C foi utilizado o ácido ascórbico granular, ou L-ácido ascórbico.

A vitamina E utilizada foi "dry vitamin E 50%, Type CWS/F" que contém 500 UI de vitamina E (acetato de *dl-α*-tocoferila ou *all-rac*-tocoferila) por grama, dispersa em uma matriz de gelatina e maltodextrina. Durante o decorrer do estudo foi necessário trocar de amostras e a Roche forneceu a vitamina E também na forma de acetato de vitamina E tipo CWS/S. A diferença entre os tipos "F" ou "S" está na matriz, que para o primeiro tipo é de gelatina e no segundo de goma acácia.

Outro tipo de vitamina E foi também utilizado somente para verificação do seu efeito sobre a turbidez das gomas de gelatina, "dry vitamin E 15% CC" também fabricada pela Roche. Este produto fornece 150 UI de vitamina E (acetato de *dl-α*-tocoferila) por grama, dispersa em uma matriz de amido modificado, contendo dióxido de silicone.

4.1.3. Ingredientes para o Preparo das Amostras

Para a preparação das amostras de gomas de gelatina utilizaram-se os seguintes ingredientes de grau alimentício, a saber:

- Gelatinas tipos A e B da Gelita do Brasil, de 240 Bloom mesh 8 de especificação para a aplicação em gomas de gelatina (Brasil)
- Xarope de glucose Excel 1040 da Corn Products (Brasil)

- Açúcar refinado comum da Copersucar (Brasil)
- Ácido cítrico anidro da Tate & Lile (Brasil)
- Aroma de morango da Mane (Brasil)

Utilizou-se amido de milho do tipo regular da marca Maizena (Brasil), previamente seco em estufa a 60°C por 1 dia para os moldes utilizados na secagem das gomas de gelatina.

Para o polimento das gomas de gelatina utilizou-se o óleo Capol 3073B da empresa Kaul Gmb (Alemanha).

4.1.4. Reagentes

Para determinação das concentrações das vitaminas lipossolúveis, A e E, na etapa de saponificação e extração foram utilizados éter etílico, metanol, hidróxido de potássio e sulfato de sódio, todos grau p.a e de diversas marcas (Synth, Merck, Nuclear e Synth, respectivamente). O padrão de alfa tocoferol utilizado na análise de vitamina E era da Sigma .

A fase móvel contendo hexano e isopropanol foi preparada com solventes grau "HPLC" (High Performance Liquid Chromatography) da marca EM Science (Merck) e filtradas em membranas de 0,45µm da Milipore (membranas PVDF-HV Durapore).

Para o autoinjeter utilizou-se acetonitrila grau HPLC, que também foi filtrada em membrana de 0,45µm da Milipore.

Para análise da vitamina C, hidrossolúvel, utilizaram-se reagentes todos de grau p.a. como ácido metafosfórico, ácido acético glacial; 2,6 diclorofenolindofenol e bicarbonato de sódio de diversas marcas (Carlo Erba, Cinética Química, Carlo Erba e Merck, respectivamente). O ácido ascórbico utilizado como padrão na análise era da Sigma.

4.2- MÉTODOS

4.2.1. Preparo das Amostras de Gomas de Gelatina

As vitaminas A, C e E foram adicionadas nas gomas de gelatina em base a 30% da Ingestão Diária Recomendada (IDR) para 100g do produto final seguindo a Portaria nº 33, de 13 de Janeiro de 1998 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 1998). A IDR para vitamina A é 800 microgramas de Retinol Equivalente (mcg RE), para vitamina C é 60 mg e para vitamina E é 10 mg de alfa-tocoferol equivalente (mg α TE). Para a alegação de enriquecimento com vitaminas A, C e E a quantidade de 100g de gomas de gelatina deve conter as seguintes concentrações das vitaminas até completar a vida de prateleira de 6 meses: 240 mcg RE, 18mg de vitamina C e 3 mg α TE.

As sobredosagens destas vitaminas para esta aplicação foram recomendadas pelo fabricante Roche, que corresponderam a 80% para a vitamina A, 80% para a vitamina C e 50% para a vitamina E.

Adicionou-se 4,43mg/100g de vitamina A acetato 325 CWS/F, 32,40mg/100g de ácido ascórbico e 13,41mg/100g de vitamina E 50% CWS/S ou CWS/F o que corresponde a 432mcg RE/100g ou vitamina A, 32,4mg/100g ácido ascórbico ou vitamina C e 4,5mg α TE/100g ou vitamina E. Para os cálculos utilizou-se um modelo em Excel fornecido pela Roche que calcula a quantidade necessária de cada vitamina para atender à alegação do rótulo, na sobredosagem sugerida. O fator de conversão da vitamina A acetato para UI é 325 e de UI para mcg RE é 0,3, portanto multiplica-se por 97,5 a quantidade da vitamina A acetato para encontrarmos a concentração em mcg RE. No caso da vitamina E acetato, o fator de conversão para mg de alfa tocoferol é 0,5 e para transformar para mg α TE é 0,671.

TABELA 2: Formulação de gomas de gelatina com e sem vitaminas A, C e E:

INGREDIENTES	SEM VITAMINAS	COM VITAMINAS A,C,E
	(g)	(g)
Gelatina 240 Bloom	40,0	40,0
Açúcar	165,0	165,0
Glucose 40DE	157,5	157,5
Ácido cítrico em pó	7,5	7,5
Água	130	130
Vitamina A acetato 325 CWS/F	-	0,0222
Ácido ascórbico	-	0,1620
Vitamina E 50% CWS	-	0,0671
Aroma	0,5 mL sobre o xarope final	0,5 mL sobre xarope o final

Procedimento de Preparo das Gomas de Gelatina:

1. Adicionar 40g de gelatina à 90mL de água quente (80-90°C), sob agitação, dissolvendo-a completamente. Deixar em repouso em banho de água a 70°C por 30 minutos. Retirar a espuma da superfície antes de usar.
2. Preparar a solução de ácido cítrico em água quente para total dissolução. Para a formulação sem vitaminas adicionar 7,5mL de água quente e para a formulação com vitaminas diminuir esta água para 5,5mL.
3. Cozinhar o açúcar, a glucose e 32,5mL de água até atingir 115°C (86% de sólidos medidos em refratômetro).
4. Resfriar esta calda de açúcares a 90-100°C. Adicionar a gelatina previamente dissolvida, misturando para homogeneizar.
5. Preparar a solução de vitaminas em 2,0mL de água fria
6. Acrescentar a solução de ácido cítrico e o aroma à calda.
7. Resfriar a calda final à 70°C para adição da solução de vitaminas. Adotou-se alternativamente a temperatura de 80°C somente em alguns processamentos para verificação da estabilidade das vitaminas a uma temperatura mais elevada.

8. Deixar repousar em banho-maria à 70°C por 30 minutos, ou 80°C quando for o caso, para que as bolhas de ar produzidas durante a mistura de gelatina com a calda de açúcares subam para a superfície e possam ser retiradas.
9. Depositar em moldes de amido seco (umidade 6-8%) e frio (25-35°C).
10. Secar por 24 horas à temperatura ambiente.
11. Proceder a limpeza das gomas e aplicar um banho de óleo especial de polimento (Capol 3073B a 0,1% sobre a quantidade de goma final).
12. Antes de serem embaladas (em embalagens BOPP – polipropileno biorientado), as gomas devem permanecer em ambiente seco e ventilado por uma noite, para estabilizar a sua umidade, evitando a exsudação de água do interior do produto para a embalagem. Devido à impossibilidade de se conseguir embalagens leitosas, empregou-se papel alumínio que foi utilizado para envolver as embalagens de BOPP para proteção contra a luz.

A mesma fórmula com vitaminas foi também preparada sem a adição de ácido cítrico. A quantidade equivalente ao ácido e a água para sua dissolução foram balanceadas eqüitativamente no conteúdo de glucose e sacarose.

A fórmula utilizada para a vitamina E 15% CC encontra-se na Tabela 3. Basicamente é a mesma utilizada para a vitamina E 50% CWS, somente variando a concentração da vitamina E, que é de um tipo diferente.

TABELA 3: Formulação de gomas de gelatina com vitamina E 15% CC

INGREDIENTES	(g)
Gelatina 240 Bloom	40,0
Açúcar	165,0
Glucose 40DE	157,5
Ácido cítrico em pó	7,5
Água	130
Vitamina A acetato 325 CWS/F	0,0222
Ácido ascórbico	0,1620
Vitamina E 15% CC	0,4500
Aroma	0,5mL sobre o xarope final

4.2.2. Métodos de Análises

Os métodos utilizados de análise de pH, sólidos totais, textura, turbidez e cor das gomas de gelatina foram desenvolvidos pela empresa Leiner Davis Gelatin (GARCIA, 2000) e encontram-se descritos a seguir, como também os utilizados para as análises das vitaminas A, C e E e atividade de água.

4.2.2.1. pH das Gomas de Gelatina

O pH das gomas foi medido na calda final antes do depósito em moldes de amido, à uma temperatura de 70°C em pHmetro marca Accumet-modelo 20 com eletrodo especial para proteínas (Xerolity da Mettler Toledo) entre 65-70°C.

É válido esclarecer que as gomas de gelatina do mercado foram fundidas em banho maria à 70°C para a leitura de pH; portanto, estes produtos já haviam sido secos em moldes de amido.

4.2.2.2. Sólidos Totais das Gomas de Gelatina

A calda final das gomas, antes do depósito em moldes de amido e secagem, foram controladas quanto ao teor de sólidos totais, medidos em refratômetro manual marca Shibuya à temperatura de 70°C. Esta prática é

utilizada pelos fabricantes de confeitos, que normalmente não medem o teor de umidade de seus produtos, controlando a quantidade de água indiretamente pela medida de sólidos finais por refratômetro.

Além da medida da porcentagem de sólidos das caldas antes do depósito, avaliou-se também a quantidade de sólidos das gomas de gelatina vitaminadas imediatamente após a secagem em moldes de amido e depois de um período de estocagem de 3 meses. Para a análise as gomas foram fundidas em banho-maria à 70°C.

As amostras de gomas de gelatina do mercado também foram fundidas à 70°C e procedeu-se a leitura de sólidos em refratômetro.

4.2.2.3. Atividade de Água das Gomas de Gelatina

A atividade de água (Aa) das gomas de gelatina foi medida em aparelho Aqualab modelo CX-2 com controle da temperatura ambiente e calibração com água destilada. Foram feitas determinações em triplicata.

Além da medida da porcentagem de sólidos das gomas de gelatina vitaminadas após a secagem em moldes de amido e depois de um período de estocagem de 3 meses a atividade de água também foi medida nestes tempos de estocagem dos produtos, como informação da água disponível para as reações de degradação das vitaminas. Para a análise de Aa as gomas foram cortadas em pequenos pedaços e colocadas diretamente no aparelho.

4.2.2.4. Textura das Gomas de Gelatina

Mediu-se a textura das gomas de gelatina em texturômetro TA-XT2 da empresa Stable Micro Systems de capacidade de 25Kg e utilizando o software Texture Expert.

Os xaropes das gomas de gelatina foram preparados de acordo com cada formulação especificada. Pesou-se 11,5g da calda a 70°C em cada molde plástico no formato de chocolate Alpino previamente untados com óleo de

polimento Capol. As bandejas plásticas contendo 10 gomas foram deixadas por 24 horas em câmara com temperatura e umidade relativa controladas a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $50\pm 2\%$.

Usou-se para a medida de dureza das gomas o menu TPA (Texture Profile Analysis) com os seguintes dados de entrada. Opção em TPA, Força em gramas, Formato da Distância em Strain, velocidades no pré-teste, teste e pós-teste em 4,0mm/s, Strain em 73%, tempo em 0,50s, Trigger Force em 20g. Os valores de "hardness" (dureza) foram compilados em software Texture Expert e posteriormente transportados ao Excel para cálculos de desvio-padrão e coeficiente de variação das 10 leituras efetuadas (que devem preferencialmente estar abaixo de 10%).

A dureza medida nas condições descritas neste trabalho correlaciona-se sensorialmente com a força usada para comprimir a goma de gelatina até a metade de sua altura usando-se o dedo para compressão, com a força requerida para comprimir a goma de gelatina usando-se o dente da frente (incisivos) numa primeira mordida da amostra e com a força requerida para comprimir a amostra usando o dente molar durante a mastigação (GARCIA, 2000).

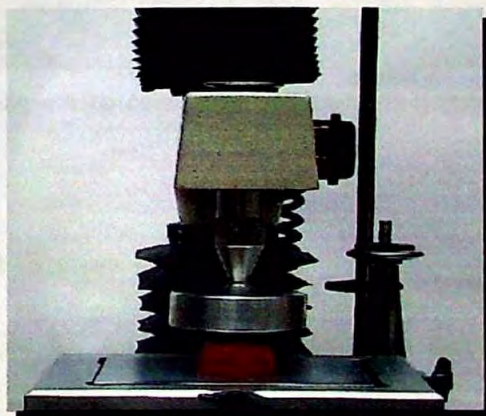


FOTO 1: : TA-XT2, ponta de prova e plataforma utilizados para análise de textura das gomas de gelatina

4.2.2.5. Turbidez das Gomas de Gelatina

A turbidez das gomas foi lida em turbidímetro Hach modelo 2100P.

A calda final das gomas a 70°C foi colocada em triplicata em tubos especiais de turbidímetro e estes foram colocados em um banho de água a 70°C por 10 minutos. Os tubos foram retirados do banho e colocados em estufa à vácuo a 15 in Hg a 60°C por 1 hora e posteriormente colocados em câmara com temperatura controlada em $20\pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. Efetuou-se a leitura diretamente no turbidímetro expressando-se os resultados em NTU (nephelometer turbidity units). Para comparação, as mesmas amostras foram avaliadas visualmente em termos de claridade e transparência.



FOTO 2: Turbidímetro e tubo com calda gelificada de goma de gelatina

4.2.2.6. Cor das Gomas de Gelatina

A cor das gomas foi analisada através de espectrofotômetro Minolta CM-508d.

A calda final das gomas a 70°C foi depositada em triplicata em tubos de ensaio cobrindo no mínimo 10,0cm de altura (tubos com tampa da Pirex código 9825 e diâmetro 2,5cm para o uso do acessório O.J.Holder para medida de cor em reflectância).

Para a retirada de bolhas e eliminação deste interferente os tubos de ensaio contendo as caldas das gomas foram colocados em estufa à vácuo a 15 in Hg por 1,5h a 50°C. Posteriormente foram estocados a uma temperatura de $20\pm 2^\circ\text{C}$ e $50\pm 2\%$ de umidade relativa por 6 meses, sendo a avaliação de cor conduzida mensalmente. A análise das caldas gelificadas no tempo zero, ou imediatamente após processamento, foi conduzida após 24 horas nesta condição controlada.

As caldas gelificadas das gomas foram lidas selecionando o sistema DIFF & ABS no menu do equipamento em modo $L^*a^*b^*$, selecionando o observador (10°) e iluminante 1 (D65). O equipamento estava em modo SCI (Specular Component Included) e normal. Os resultados foram avaliados através do software Winshades onde os resultados de cor avermelhada são obtidos através da leitura de a^* , os de cor amarelada através da leitura de b^* e as leituras de luminosidade ou claridade através de L^* , colocando-se como padrão as gomas sem adição de vitaminas. O próprio software calcula o gradiente de cor amarelada (Δb^*) que já é um resultado de comparação média entre as triplicatas da amostra em questão com as triplicatas do padrão. Para seguimento do parâmetro luminosidade, ou comparação se as gomas são escuras ou claras em relação ao padrão, foi reportado o gradiente de luminosidade (ΔL^*).

Utilizou-se também o parâmetro ΔE^* que é a fórmula de diferença de cor CIE $L^*a^*b^*$ considerando-se os três parâmetros, ΔL^* , Δa^* e Δb^* .

A forma de interpretação dos resultados encontra-se no Quadro 1.

QUADRO 1: Classificação das leituras de cor em valores de $\Delta L^*a^*b^*$

Δa^* positivo	As gomas são mais avermelhadas que o padrão sem vitaminas
Δa^* negativo	As gomas são menos avermelhadas que o padrão sem vitaminas
Δb^* positivo	As gomas são mais amareladas que o padrão sem vitaminas
Δb^* negativo	As gomas são menos amareladas que o padrão sem vitaminas
ΔL^* positivo	As gomas são mais claras que o padrão sem vitaminas
ΔL^* negativo	As gomas são mais escuras que o padrão sem vitaminas

As gomas foram avaliadas durante a vida de prateleira, visto que uma coloração amarelada foi percebida com o decorrer do tempo de estocagem em testes preliminares. Esta avaliação foi feita analítica e visualmente durante 6 meses, sendo as gomas avaliadas no tempo zero ou inicial e de 1 em 1 mês. Avaliou-se a influência de cada vitamina em separado em comparação ao produto sem vitaminas e com todas as vitaminas adicionadas. As gomas de gelatina foram embaladas em embalagens BOPP e metade delas foi coberta com um filme aluminizado para proteção da luz e a outra metade não foi coberta. Todas as amostras foram mantidas em câmara climatizada com temperatura e umidade controladas a $20^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $50\%\pm 2\%$ respectivamente. Somente para observação visual as gomas foram estocadas até completarem 1 ano de vida de prateleira.



FOTO 3: Espectrofotômetro, aparato O. J. Holder e tubos de ensaio com calda gelificada

Testou-se a eficiência da eliminação de oxigênio dentro da embalagem sobre o escurecimento das gomas de gelatina vitaminadas pela utilização de sachês absorvedores de oxigênio produzidos pela empresa Didal.

O absorvedor de oxigênio da marca O-Buster é um composto químico, não tóxico, em pó, a base de óxido de ferro.

Tomando-se como base as dimensões da embalagem utilizada, 15,5cm de comprimento por 12cm de largura e um espaço livre de 29% na embalagem, o fabricante calculou o volume total aproximado de $193,75 \text{ cm}^3$ e chegou à conclusão de que o volume de ar na embalagem é de aproximadamente $56,19 \text{ cm}^3$. Considerando-se que 20% do volume de ar corresponde a quantidade de oxigênio, o volume de oxigênio a ser absorvido pelos sachês é de $11,24 \text{ cm}^3$. Portanto, recomendou o uso de seus sachês FT20 que tem a capacidade de absorver 20 cm^3 de oxigênio. Entretanto, pela falta de disponibilidade de sachês deste tipo, forneceu amostras do tipo FT100, que possui capacidade de absorção 5 vezes maior e estas foram testadas nas gomas de gelatina, apenas observando visualmente o desenvolvimento da coloração escura com o tempo

em relação às gomas sem adição de vitaminas. Foi adicionado 1 sachê por embalagem.

Com a finalidade de minimizar o escurecimento das gomas com o tempo de prateleira, avaliou-se também o efeito da presença ou ausência de ácido cítrico na formulação, e portanto o pH do produto, assim como a utilização de outro tipo de gelatina, ou seja a gelatina tipo A, que através de relatos de fabricantes do confeito gomas de gelatina mostra-se menos susceptível ao escurecimento do que a gelatina tipo B em formulações tradicionais de gomas, isto é, sem adição de vitaminas.

4.2.2.7. Vitamina A e Vitamina E

Para padronização da metodologia de análise da vitamina A utilizou-se Acetato de Vitamina A tipo 325 CWS/F, fabricada por F. Hoffmann-La Roche e esta vitamina foi saponificada para desesterificação e conversão a retinol.

Para padronização da metodologia de análise da vitamina E utilizou-se α -tocoferol padrão SIGMA, pois a utilização da própria vitamina na forma de acetato de vitamina E não resultou nos valores de vitamina E esperados.

A metodologia de análise para ambas vitaminas foi adaptada segundo BIANCHINI e PENTEADO (1999), método sendo utilizado pelo Laboratório de Análise de Alimentos da FCF/USP.

Para quantificação das vitaminas A e E foram preparadas soluções-padrão de concentrações conhecidas de acordo com a faixa de concentração destes compostos na goma de gelatina, em duplicata. A partir das áreas obtidas e das concentrações correspondentes foi efetuada análise de regressão linear. A linearidade da curva foi avaliada pelo coeficiente de correlação (R^2).

Os limites de quantificação foram avaliados segundo SNYDER e KIRKLAND (1979), usando-se a altura correspondente a 5 vezes a altura

média do ruído, sendo seu valor determinado com base na concentração da solução padrão injetada dentro dos limites esperados de concentração, aproximadamente 240mcg RE e 3,0mg α TE.

A recuperação foi determinada segundo BIANCHINI e PENTEADO (1999), adicionando-se diretamente na amostra quantidades conhecidas dos padrões, antes da saponificação.

Utilizou-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) composto de auto injetor, bomba, controlador de sistema e detectores de UV = 325 nm e fluorescência em excitação a 295nm e emissão em 330nm. A coluna sílica empregada para as análises foi CLC-SIL (M) Shim-pack 25 cm marca Shimadzu, fase móvel: hexano:isopropanol (99:01 v/v), fluxo 2mL/min e volume de injeção de 20 μ L. A fase móvel foi degaseificada com hélio.

Para o preparo das amostras dos padrões foram pesados cerca de 2,5 mg da vitamina A, diluída em 10 mL de água e para o padrão de vitamina E usou-se aproximadamente 10mg de α -tocoferol, que foi diretamente diluído em 50 mL de hexano e filtrado em membrana de 0.45 μ m antes da injeção no cromatógrafo.

A pureza do padrão de alfa-tocoferol foi determinada através da absorvância máxima obtida, segundo BIANCHINI e PENTEADO (1999), usando-se o valor de coeficiente de absorção para o α -tocoferol de 85 em hexano e leitura em $\lambda=292$ nm.

A seguinte fórmula foi utilizada para os cálculos da pureza:

$$\mu\text{g do composto/mL de solução} = \frac{\text{absorvância máxima} \times 10^4}{\text{coeficiente de absorção}}$$

A pureza foi utilizada para a determinação das concentrações de α -tocoferol livre, que depois foi convertido para equivalentes de α -tocoferol.

Devido à variação observada no tempo de retenção para a vitamina A, sempre que as gomas de gelatina foram analisadas quanto ao seu teor comeu-

se duas análises da vitamina A pura e saponificada. Adotou-se o mesmo procedimento para a vitamina E, mas neste caso o padrão utilizado foi o α -tocoferol puro.

Para a determinação das vitaminas A e E nas gomas de gelatina empregou-se 5g de amostra picada, coletada de várias gomas para maior homogeneização, que foram diluídas em 10 mL de água, permanecendo por 15 minutos intumescendo para facilitar a dissolução que foi conduzida à 40°C. Foram adicionados 50mL de KOH metanólico a 15% (p/v) e esta mistura permaneceu uma noite no escuro.

A mistura foi transferida para um funil de separação sendo adicionados cerca de 50mL de éter etílico, ficando em agitação por 10 minutos e depois em repouso por 5 minutos para completa separação entre as fases. A fase inferior (metanólica) foi recolhida e a etapa de extração repetida, com tempo de agitação de 10 minutos. Os extratos etéreos foram combinados e lavados com água destilada até remoção do álcali e usou-se sulfato de sódio para eliminação da água residual. A seguir, o éter etílico foi removido em evaporador rotativo. Ao resíduo foram adicionados 1mL de hexano. Esta solução foi filtrada em membrana de 0,45 μ m, sendo injetados 20 μ L no cromatógrafo.

4.2.2.8. Vitamina C

Para determinação da concentração de vitamina C nas gomas de gelatina utilizou-se o método titulométrico A.O.A.C., 1990.

a) Princípio

O ácido ascórbico em soluções aquosas é um forte agente redutor e é oxidado por agentes oxidantes como o indicador de oxido redução, 2,6--dicloroindofenol. O indicador na forma oxidada é "pink"/azul e rosa "pink" em solução ácida. A reação é conduzida em meio ácido e quando o indicador é

reduzido ele torna-se incolor. O ponto final da titulação é quando a solução torna-se rosa "pink" o que significa que há indicador sem reduzir.

A vitamina C é extraída e a titulação conduzida na presença de soluções de HPO_3 -HOAc para a reação e para prevenir auto-oxidação do ácido ascórbico em pH alto.

b) Reagentes

b.1) Solução de extração de ácido metafosfórico-ácido acético :

- Dissolver com agitação 15 g de HPO_3 em 40 mL de HOAc e 200 mL de água;
- Diluir com água para 500 mL e filtrar rapidamente através de filtro de papel em frasco de vidro;
- Estocada sob refrigeração se mantém satisfatória por 7 a 10 dias.

b.2) Solução Padrão de Ácido Ascórbico: 1mg/mL

- Pesar exatamente 50mg de ácido ascórbico padrão SIGMA;
- Transferir para um balão volumétrico de 50mL;
- Diluir para o volume imediatamente antes de usar com a solução de ácido metafosfórico-ácido acético.

b.3) Solução padrão de indofenol

- Dissolver 50mg de 2,6 dicloroindofenol – sal de sódio em 50 mL de água para a qual tenha sido adicionada 42 mg NaHCO_3 . Agitar vigorosamente e quando o corante dissolver, diluir para 200 mL com água;
- Filtrar através de papel para um frasco de vidro âmbar;
- Manter estocado longe de luz direta do sol e em refrigerador.

Transferir três alíquotas de 2,0 mL de solução padrão de ácido ascórbico para cada um dos três erlenmeyers contendo 5,0 mL de solução

HPO₃-HOAc. Completar com água destilada para aproximadamente 20mL. Titular rapidamente com solução de indofenol até um rosa "pink" bem vivo persistir.

Da mesma maneira titular 3 brancos compostos de 7,0mL de solução HPO₃-HOAc, mais um volume de água para completar aproximadamente 20mL de solução final. Depois subtrair a média dos brancos (cerca de 0,1mL) das titulações estandardizadas, calcular e expressar a concentração da solução de indofenol como mg de ácido ascórbico equivalente a 1,0 mL de reagente.

Padronizar a solução de indofenol diariamente com solução de ácido ascórbico recém preparada.

c) Preparação da Solução da Amostra para o Ensaio

Colocar 50 g de gomas de gelatina picadas em um becker com 50 mL de solução de extração (HPO₃-HOAc), deixar intumescer por 15 minutos e aquecer brandamente até 40°C para dissolução. Transferir para um balão volumétrico de 100mL e diluir ao volume com a solução de extração. Esta operação entre a diluição e análise da amostra deve ser feita o mais rapidamente possível para evitar gelificação da amostra.

Designar esta solução como V (mL).

d) Determinação

Titular três amostras de 10 mL cada e fazer as determinações dos brancos. Para a titulação completar para aproximadamente 20 mL no erlenmeyer com água destilada.

$$\text{mg de ácido ascórbico/g ou /mL} = (X-B) \times (F/E) \times (V/Y)$$

X= média dos mL gastos na titulação

B= média dos mL gastos na amostra do branco

F = mg de ácido ascórbico equivalente a 1.0 mL de solução indofenol

E= g ou mL usados no ensaio

V= volume inicial da solução do ensaio

Y= volume da alíquota da amostra titulada

As gomas de gelatina foram avaliadas segundo métodos das vitaminas A, C e E acima descritos em diferentes condições, no tempo inicial (tempo 0) e durante o tempo de estocagem no mês 1, 2, 3, 4, 5 e 6, assim como variando a temperatura de adição da vitaminas em 70°C e 80°C, com e sem adição de ácido cítrico (em pHs diferentes). A vitamina C foi avaliada também em gomas de gelatina após completarem 6 meses de vida de prateleira com e sem a adição de absorvedores de oxigênio na embalagem.

Diversos processamentos de gomas foram feitos até definição das metodologias e as várias amostras foram estocadas para serem utilizadas no acompanhamento da estabilidade das vitaminas com a vida de prateleira. Adotou-se o seguinte critério: gomas até 21 dias após a data de preparo eram consideradas como tempo zero, para 1 mês de vida de prateleira os produtos completando de 22 até 45 dias, de 46 dias até 75 dias para 3 meses e assim por diante até completar 6 meses (180 dias). Nas análises sempre se utilizou pelo menos as gomas de dois processamentos para cada condição e em duplicata (para determinação de vitaminas A e E, com duas injeções por replicata) ou triplicata (na análise de vitamina C).

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1- pH, SÓLIDOS TOTAIS, TEXTURA, TURBIDEZ E COR

5.1.1. pH e Sólidos das Gomas de Gelatina com e sem adição de Vitaminas

As caldas das gomas de gelatina foram analisadas quanto ao seu pH e teores de sólidos após a adição de cada vitamina em separado e também numa calda sem vitaminas e com as vitaminas A, C e E. Os resultados estão apresentados na Tabela 4 e referem-se às caldas analisadas antes do depósito nos moldes de amido.

TABELA 4: Efeito da adição de vitaminas sobre os teores de pH e sólidos totais das caldas de gomas de gelatina antes do depósito nos moldes de amido *

	Sem Vitamina	Vitamina A	Vitamina C	Vitamina E	Vitaminas A,C,E
pH	3,45±0,02	3,42±0,02	3,42±0,02	3,44±0,02	3,43±0,02
Sólidos (%)	74,2±0,2	74,0±0,2	74,0±0,2	74,0±0,2	74,2±0,2

*resultados médios de 4 determinações

O pH dos produtos comerciais foram analisados para comparação e os resultados obtidos foram:

- Gomas do fabricante (1): o pH das gomas foi de 3,28 e sólidos finais 82,2%.
- Gomas do fabricante (2): o pH das gomas foi de 3,36 e sólidos finais 83,0%.
- Gomas do fabricante (3): o pH das gomas foi de 3,15 e sólidos finais 84,0%.

Os produtos processados para os testes encontram-se numa faixa de pH superior aos produtos analisados do mercado, porém dentro do normal para

esta aplicação. A adição de vitaminas, tanto em separado como em conjunto não afetou o pH das caldas das gomas de gelatina.

A porcentagem de sólidos das caldas medida em refratômetro foi controlada para garantir que os processamentos estivessem todos na mesma faixa de sólidos, evitando assim variações no teor de umidade das caldas antes do depósito em moldes de amido, permitindo portanto a comparação das texturas dos produtos e degradação das vitaminas adicionadas. Segundo WIENEN e KATZ (1991), a temperatura final de cozimento determina a concentração de açúcares no produto acabado. Assim, a concentração de açúcares, ou sólidos, tem um impacto na umidade relativa de equilíbrio, que pode causar no confeito aderência, exsudação de água ou uma gelificação inadequada. Os mesmos autores definem a umidade relativa de equilíbrio como sendo função da concentração de sólidos a uma temperatura específica e um indicador do conteúdo de umidade do confeito após o período de gelificação.

Portanto, os valores encontrados para sólidos totais estão todos dentro da mesma faixa, ao redor de 74% de sólidos e de acordo com a faixa recomendada por JACKSON e LEES (1973), que varia de 72 a 78% no depósito da calda.

Os produtos do mercado encontram-se numa faixa de sólidos bem mais alta pois já foram secos após depósito nos moldes de amido.

5.1.2. Textura das Gomas de Gelatina adicionadas ou não de Vitaminas

A dureza das gomas de gelatina foi medida através da análise de perfil de textura por TPA ("Texture Profile Analysis").

Comparou-se o efeito das vitaminas em separado e em conjunto sobre a textura das gomas após processamento (tempo zero) em relação ao parâmetro dureza e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 5. Em

paralelo foi preparada uma goma sem vitaminas, que foi adotada como padrão para avaliação do efeito das vitaminas sobre a dureza das gomas.

A dureza instrumental correlaciona-se com a força para comprimir a amostra até a distância estipulada, que neste caso foi definida como 73% da altura do confeito.

TABELA 5: Efeito da adição de vitaminas na dureza das gomas de gelatina*

	Sem Vitamina	Vitamina A	Vitamina C	Vitamina E	Vitaminas A,C,E
Dureza (kgf)	16,1039±0,5349	16,2732±0,7672	16,7607±0,5750	15,9312±0,7142	14,6744±0,7397

*resultados médios de 20 determinações

Utilizou-se o software STATGRAPHICS para a análise estatística dos dados, que foram avaliados por análise de variância, por comparação múltipla usando os gráficos de LSD "least square difference" em intervalos de confiança de 95%.

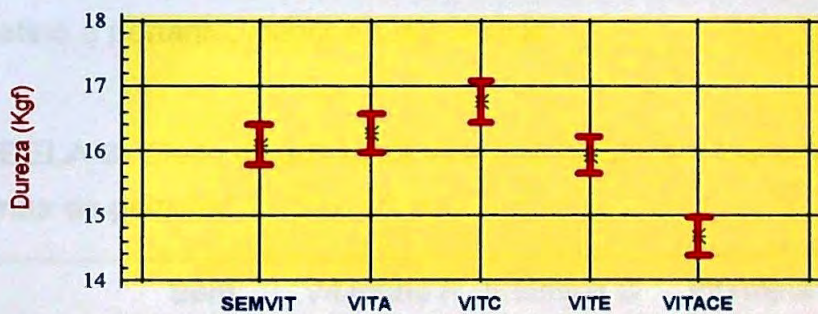


GRÁFICO 1 : Efeito das vitaminas sobre a dureza das gomas de gelatina

Legenda: SEMVIT-sem vitaminas adicionadas, VITX -cada vitamina adicionada, VITACE-vitaminas A, C e E.

Avaliando-se os resultados no Gráfico 1 observa-se que a textura das gomas com a adição de todas as vitaminas foi afetada negativamente quando comparada com o padrão sem adição de vitaminas, pois as barras não

coincidem. Nota-se que a vitamina E foi a única vitamina que apresentou uma tendência de queda na dureza, mas as gomas com vitaminas adicionadas separadamente são consideradas similares estatisticamente ao produto sem vitaminas, pois as barras coincidem.

Vale ressaltar que por experiência em trabalhos não publicados e efetuados pela empresa Leiner Davis, que uma diferença média de até 2Kgf na dureza das gomas de gelatina não é percebida sensorialmente, portanto não podemos afirmar, apesar da diferença estatística obtida através dos dados analíticos que as vitaminas afetaram a qualidade do produto final.

5.1.3. Turbidez das Gomas de Gelatinas adicionadas ou não de Vitaminas

Comparou-se o efeito no tempo zero (após processamento e sem estocagem) das vitaminas em separado e em conjunto, sobre a turbidez das gomas.

Na Tabela 6, quanto maiores os resultados numéricos da turbidez medida por instrumental, maior a turbidez das caldas gelificadas das gomas de gelatina e portanto, menor a sua claridade.

TABELA 6: Efeito da adição de vitaminas na turbidez instrumental e visual das gomas de gelatina*

	Sem Vitamina	Vitamina A	Vitamina C	Vitamina E	Vitaminas A,C,E
Turbidez (NTU)	4,88±0,05	5,98±0,20	5,02±0,06	7,01±0,18	8,26±0,04
Turbidez Visual	Transparente	Transparente	Transparente	Ligeiramente turva (+)	Ligeiramente turva (++)

*resultados médios de 6 determinações

Com o auxílio do mesmo software mencionado anteriormente esses resultados estão apresentados no Gráfico 2.

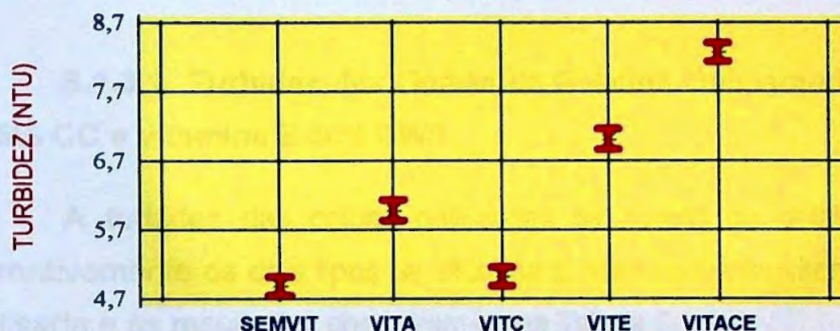


GRÁFICO 2 : Efeito da adição de vitaminas sobre a turbidez das gomas de gelatina

Legenda: SEMVIT-sem vitaminas adicionadas, VITX -cada vitamina adicionada), VITACE-vitaminas A, C e E.

A vitamina C não afetou a turbidez instrumental das caldas gelificadas das gomas de gelatina, como pode ser observado no Gráfico 2, mas as caldas com vitaminas A e E são mais turvas que o padrão sem vitaminas e o produto final com todas as vitaminas adicionadas apresentou-se o mais turvo de todos. Este resultado era esperado pois a solução destas vitaminas em água é extremamente leitosa. Apesar da diferença estatística encontrada, as gomas com vitaminas A, C e E são transparentes e claras não sendo notada visualmente esta diferença. Produtos do tipo gomas de gelatina quando apresentam resultados de turbidez acima de 100 ntu já são leitosos (GARCIA, 2000), mas os resultados encontrados foram muito baixos denotando uma baixa turbidez nas caldas de gomas analisadas.

Nos tubos contendo as caldas gelificadas notou-se visualmente uma ligeira turbidez com a vitamina E isoladamente e com as vitaminas A, C e E, como mostram os resultados na Tabela 6, mas no produto final após depósito em moldes de amido e secagem o mesmo não é observado, e portanto pode-se dizer que as vitaminas não afetaram visualmente a qualidade das gomas de

gelatina quanto ao aspecto de claridade, mas analiticamente percebe-se a influência das vitaminas A e E.

5.1.3.1. Turbidez das Gomas de Gelatina comparando-se vitamina E 15% CC e vitamina E 50% CWS

A turbidez das caldas gelificadas de gomas de gelatina usando-se alternativamente os dois tipos de vitamina E associados às vitaminas A e C foi analisada e os resultados encontram-se na Tabela 7.

TABELA 7: Turbidez instrumental e visual das gomas de gelatina com as vitaminas E do tipo 50% CWS e 15% CC *

	Vitamina E 50% CWS	Vitamina E 15% CC
Turbidez (NTU)	8,07±0,11	11,4±0,7
Turbidez Visual	Ligeiramente turva (++)	Ligeiramente turva (++)

* resultados médios de 6 determinações

Os resultados indicam que não foi satisfatória a troca do tipo de vitamina E para o propósito de melhora da turbidez das gomas, pelo contrário, observou-se uma tendência do aumento da turbidez com o novo tipo de vitamina E 15% CC, apesar de visualmente não ter sido possível notar diferenças entre as caldas analisadas.

5.1.4. Cor das Gomas de Gelatina adicionadas ou não de Vitaminas

Gomas de Gelatina com e sem adição de vitaminas A, C e E em embalagens tradicionais de gomas de gelatina, armazenadas em câmaras

climatizadas com temperatura e umidade controladas (20°C e 50% aproximadamente) foram analisadas durante um período da vida de prateleira de 6 meses. Na Foto 4, pode-se observar nitidamente que as gomas de gelatina



FOTO 4: Efeito das vitaminas em gomas de gelatina após 6 meses de vida de prateleira

fortificadas com vitaminas (à direita na foto) resultaram em uma coloração amarelada, tendendo ao marrom, mais intensa que o padrão sem adição de vitaminas. Produtos vitaminados deixados por 1 ano em estocagem apresentaram uma tonalidade marrom muito intensa (Foto 5) afetando negativamente e consideravelmente sua qualidade, tomando-os inaceitáveis quando comparados ao padrão sem vitaminas.



FOTO 5: Efeito das vitaminas em gomas de gelatina após 1 ano de vida de prateleira

O produto comercial do fabricante (3) após estocagem por 6 meses à temperatura ambiente também apresentou um escurecimento considerável das gomas de gelatina, que inicialmente, quando recém-compradas, apresentavam-se extremamente claras.

Para acompanhamento do escurecimento, comparou-se o efeito das vitaminas em separado e em conjunto tanto visual quanto analiticamente. Os resultados da avaliação visual e da cor amarelada, cor avermelhada e luminosidade ou claridade das gomas após 24 horas do preparo (inicial) e durante a vida de prateleira analisadas a cada um mês estão na Tabela 8.

TABELA 8: Cor instrumental ($L^*a^*b^*$) e visual das gomas de gelatina com o tempo de prateleira

	Vitamina A	Vitamina C	Vitamina E	Vitaminas A,C,E
Δa^* inicial	0,00	0,06	0,18	0,11
Δb^* inicial	-0,29	-0,13	-0,03	-0,43
ΔL^* inicial	-0,11	0,05	-0,35	-0,49
Visual (Inicial)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (+)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (+)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (+)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (+)
Δa^* 1 mês	-0,0	0,06	0,08	-0,01
Δb^* 1 mês	-0,24	0,03	0,04	-0,27
ΔL^* 1 mês	0,06	0,21	0,04	-0,18
Visual 1 mês BOPP	Claras (+) e ligeiramente amarelas (+)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (+)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)
Visual 1 mês BOPP + alumínio	Claras (+) e ligeiramente amarelas (+)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (+)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)
Δa^* 2 meses	0,01	0,13	0,11	0,12
Δb^* 2 meses	-0,35	-0,31	-0,15	-0,41
ΔL^* 2 meses	-0,12	-0,19	-0,15	-0,55
Visual 2 meses BOPP	Claras (+) e ligeiramente amarelas (+)	Escuras (+) e ligeiramente amarelas (+++)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)	Escuras (+) e ligeiramente amarelas (+++)
Visual 2 meses BOPP + alumínio	Claras (+) e ligeiramente amarelas (+)	Escuras (+) e ligeiramente amarelas (+++)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)	Escuras (+) e ligeiramente amarelas (+++)
Δa^* 3 meses	-0,04	0,25	0,09	0,11
Δb^* 3 meses	-0,26	-0,03	-0,17	-0,21
ΔL^* 3 meses	-0,16	-0,07	-0,26	-0,32
Visual 3 meses BOPP	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)	Escuras (+++) e ligeiramente marrom (+++)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (+++)	Escuras (+++) e ligeiramente marrom (++++)
Visual 3 meses BOPP + alumínio	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)	Escuras (+++) e ligeiramente marrom (++)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)	Escuras (+++) e ligeiramente marrom (+++)
Δa^* 4 meses	0,00	0,18	0,13	0,08
Δb^* 4 meses	-0,18	-0,03	-0,20	-0,04
ΔL^* 4 meses	-0,01	0,09	-0,14	0,03

Visual 4 meses BOPP	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)	Escuras (+++) e ligeiramente marrom (++++)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (+++)	Escuras (+++) ligeiramente marrom (+++++)
Visual 4 meses BOPP + alumínio	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)	Escuras (+++) e ligeiramente marrom (+++)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)	Escuras (+++) e ligeiramente marrom (++++)
Δa^* 5 meses	0,07	0,27	0,18	0,13
Δb^* 5 meses	-0,17	0,13	-0,15	-0,15
ΔL^* 5 meses	-0,01	-0,20	-0,43	-0,45
Visual 5 meses BOPP	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)	Escuras (+++) e ligeiramente marrom (++++)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (+++)	Escuras (+++) ligeiramente marrom (+++++)
Visual 5 meses BOPP + alumínio	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)	Escuras (+++) e ligeiramente marrom (+++)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)	Escuras (+++) e ligeiramente marrom (++++)
Δa^* 6 meses	-0,06	0,24	0,12	0,11
Δb^* 6 meses	-0,50	-0,14	-0,31	-0,34
ΔL^* 6 meses	-0,27	-0,36	-0,52	-0,67
Visual 6 meses BOPP	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)	Escuras (++++) e ligeiramente marrom (+++++)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (+++)	Escuras (++++) ligeiramente marrom (+++++)
Visual 6 meses BOPP + alumínio	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)	Escuras (+++) e ligeiramente marrom (+++)	Claras (+) e ligeiramente amarelas (++)	Escuras (+++) e ligeiramente marrom (++++)

As análises gráficas dos dados mostrando a variação dos parâmetros ΔL^* , Δa^* e Δb^* de cor com o tempo para cada vitamina em separado e em conjunto estão apresentadas nos Gráficos 3, 4 e 5. O padrão na análise é o produto sem vitaminas adicionadas.

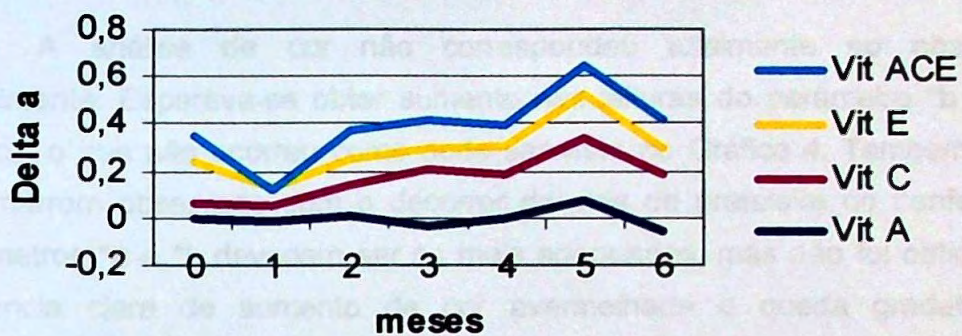


GRÁFICO 3: Acompanhamento de Δa^* (coloração avermelhada) com o tempo de 6 meses

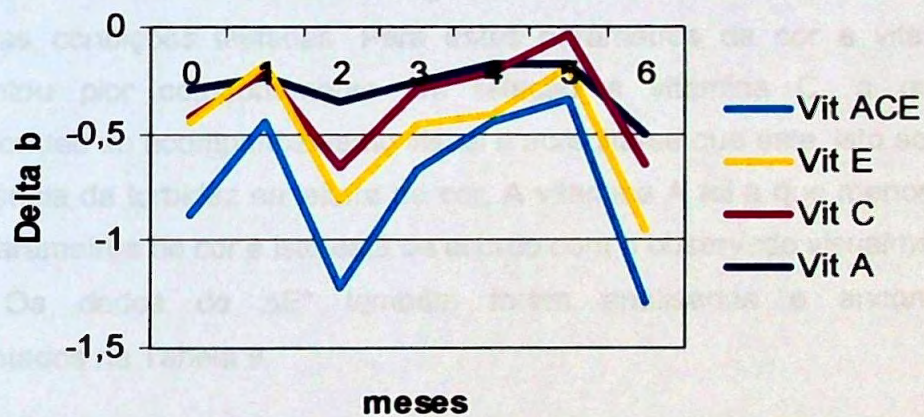


GRÁFICO 4: Acompanhamento de Δb^* (coloração amarelada) com o tempo de 6 meses

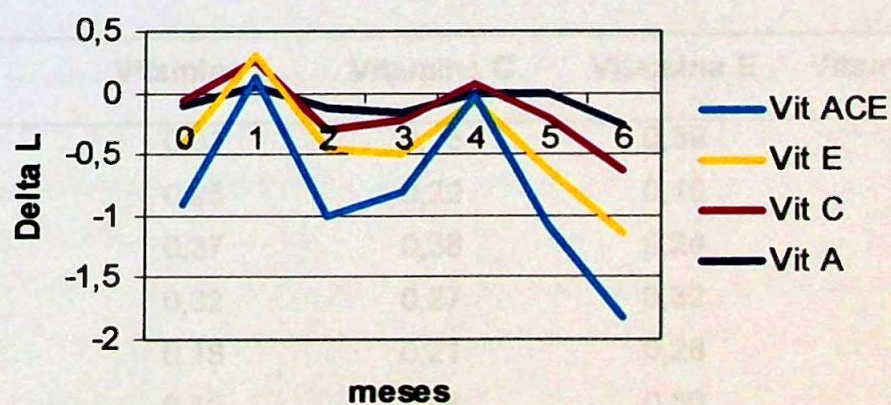


GRÁFICO 5: Acompanhamento de ΔL^* (luminosidade) com o tempo de 6 meses

A análise de cor não correspondeu totalmente ao observado visualmente. Esperava-se obter aumento nas leituras do parâmetro *b com o tempo, o que não ocorreu como pode ser visto no Gráfico 4. Também, pelo tom marrom observado com o decorrer da vida de prateleira do confeito, os parâmetros *a e *L deveriam ser os mais adequados, mas não foi obtida uma tendência clara de aumento de cor avermelhada e queda gradativa da luminosidade com o tempo.

Para a goma de gelatina com vitaminas A, C e E, nota-se nos Gráficos 3 e 5, somente uma tendência desta goma ser mais avermelhada e escura que as outras condições testadas. Para estes parâmetros de cor a vitamina E apresentou pior comportamento em relação à vitamina C, o que não correspondeu ao acompanhamento visual e acredita-se que este isto se deva à interferência da turbidez na leitura de cor. A vitamina A foi a que menos afetou estes parâmetros de cor e isto está de acordo com o observado visualmente.

Os dados de ΔE^* também foram analisados e encontram-se apresentados na Tabela 9.

TABELA 9: Variação de ΔE^* das caldas de goma de gelatina com o tempo de prateleira

	Vitamina A	Vitamina C	Vitamina E	Vitaminas ACE
Inicial	0,31	0,15	0,39	0,66
1 mês	0,25	0,22	0,10	0,32
2 meses	0,37	0,38	0,24	0,70
3 meses	0,32	0,27	0,32	0,40
4 meses	0,18	0,21	0,28	0,09
5 meses	0,18	0,36	0,50	0,51
6 meses	0,57	0,46	0,61	0,76

Não foram encontradas boas correlações entre o tempo de estocagem e ΔE , que mede a diferença de cor. A melhor correlação, ainda não satisfatória, foi obtida para a vitamina C (coeficiente de correlação entre o tempo e ΔE foi de 0,78) denotando uma tendência de aumento de cor com o tempo, o que correspondeu ao observado visualmente com um aumento da cor da goma, entretanto esperava-se obter um aumento de ΔE para todas as vitaminas adicionadas (A, C e E juntas) e isto não ocorreu.

Foi observado durante a leitura de cor das caldas de gomas que a tonalidade marrom nos tubos de ensaio não se desenvolveu na mesma intensidade do que nas gomas embaladas e portanto acredita-se que devido a isto não foi possível obter tendências mais claras quando da análise dos dados obtidos. Pensou-se na dissolução das gomas finais para leitura de cor, mas a secagem em amido dos produtos acarreta uma diminuição da umidade das gomas, o que leva a formação de uma calda final extremamente viscosa após sua dissolução, o que impossibilita a leitura de cor nas caldas, pela presença de muitas bolhas de ar. Pelo observado, sugere-se o desenvolvimento de uma metodologia que permita a leitura direta nos produtos finais e não nas caldas, o que certamente deverá ser cuidadosamente avaliado quanto à uniformização dos espaços vazios e tamanho dos produtos.

O método desenvolvido e que se mostrou satisfatório quanto à obtenção de diferenças entre tonalidades amarelas obtidas com o emprego de gelatinas tipo A e B em gomas de gelatina (GARCIA, 2000), necessita portanto ser adaptado para acompanhamento de mudança de cor com a vida de prateleira em gomas de gelatina.

Portanto pelo observado, a vitamina C foi responsável pelo escurecimento das gomas vitaminadas. O ácido ascórbico é reativo como ácido e agente redutor e está envolvido em muitas reações de escurecimento (OTTAWAY, 1993).

A formação de pigmentos marrons também é decorrente da reação de Maillard, que essencialmente cobre as reações que envolvem compostos com

grupos amino e carbonila que estão presentes em alimentos. Estes incluem aminas, aminoácidos, proteínas interagindo com açúcares, aldeídos e cetonas assim como produtos da oxidação lipídica. A reação de Maillard é apontada como responsável pelo escurecimento ou "browning" de sucos cítricos (ESKIN, 1990).

Acredita-se que nas gomas de gelatina os dois mecanismos, oxidação do ácido ascórbico e reação de Maillard sejam responsáveis pela coloração escura que apareceu após alguns meses de estocagem do produto. A oxidação do ácido ascórbico explica a tonalidade mais escura nos produtos vitaminados quando comparados aos produtos sem vitaminas. Nas gomas de gelatina a presença de uma proteína (gelatina) e carboidratos (xarope de glucose) permitem a reação de Maillard.

Tentando explicar o desenvolvimento da tonalidade marrom com o tempo em produtos cítricos LEE e COATES (1999), sugerem que o ácido dehidroascórbico tem importância como iniciador do escurecimento não enzimático. VIEIRA, TEIXEIRA e SILVA (2000), também mencionam que em produtos cítricos o processo de escurecimento não é enzimático e inicia-se com a degradação do ácido dehidroascórbico com a formação de várias ozonas que através da reação de Maillard produzem escurecimento independente da presença ou não de oxigênio. Uma maneira de se evitar o escurecimento é prevenir que o ácido dehidroascórbico se degrade.

A degradação do ácido ascórbico ocorre tanto pela via anaeróbica quanto aeróbica, entretanto a via anaeróbica de degradação do ácido ascórbico é duas ou três vezes menor do que a magnitude das reações oxidativas. Esta degradação é associada com reações de descoloramento tanto na presença quanto ausência de aminas. O ácido dehidroascórbico assim como as dicarbonilas formadas durante a degradação podem participar na degradação de Strecker com aminoácidos e os produtos desta reação são avermelhados ou amarelados. Um produto da degradação anaeróbica tem uma coloração

marrom e por polimerização forma pigmentos da cor caramelada (GREGORY III, 1996).

Em balas duras processadas pelo método de depósito, quando o ácido ascórbico é adicionado aparecem problemas de escurecimento e isto ocorre quando o ácido ascórbico é adicionado à 145°C. O escurecimento é acompanhado de formação de dióxido de carbono com formação de espuma e produção de furfural. Este problema parece ser causado pela acidez, com o tempo e temperatura sendo os fatores determinantes. Em gomas de mascar o mesmo problema ocorre em produtos adicionados de vitamina C, que tem sua vida de prateleira diminuída pelo aparecimento de uma coloração amarelada e a umidade da goma embalada é suficiente para fazer com que estas mudem de coloração amarelo para marrom em poucos meses (O'BRIEN e ROBERTON, 1993).

Acompanhando-se o comportamento das gomas durante a vida de prateleira notou-se visualmente (ver resultados na Tabela 8) que a partir de 3 meses de estocagem os produtos começaram a escurecer significativamente em relação ao padrão sem vitaminas, mudando de tonalidade amarelada para tons de marrom, sugerindo a oxidação do ácido ascórbico e isto foi observado com a vitamina C e no produto com todas as vitaminas A, C e E, denotando claramente a influência da vitamina C sobre este comportamento. A proteção da embalagem BOPP com alumínio colocado externamente não evitou que o defeito aparecesse no produto final, indicando que a proteção à luz não foi efetiva para o impedimento da reação.

Foi possível notar que nos tubos de ensaio usados para a leitura a tonalidade marrom apareceu na interface entre a calda gelificada da goma e espaço livre do tubo, sugerindo que a reação de escurecimento acontece somente numa concentração maior de oxigênio, o que deve estar ocorrendo dentro da embalagem das gomas, pois a tonalidade marrom no produto embalado é bem intensa e homogênea e perfeitamente notada.

RYLEY e KAJDA (1994) apontam que os fatores de processo mais importantes na perda de vitamina C em sucos de frutas são o oxigênio dissolvido e oxigênio no espaço livre, a permeabilidade da embalagem e da selagem e a temperatura de estocagem. Mas também citam que outros estudos demonstraram que a degradação do ácido ascórbico é largamente anaeróbia. O ácido ascórbico é sensível ao nível de oxigênio dissolvido, mas quando o espaço vazio e o oxigênio dissolvido entram em equilíbrio, a perda continua anaerobiamente, mas ambos os mecanismos acontecem simultaneamente.

A temperatura de estocagem foi controlada, as gomas foram embaladas em embalagens industriais usadas para este confeito, e ainda cobertas com papel alumínio, mas os resultados indicam que houve oxidação do ácido ascórbico e pode ser que havia oxigênio suficiente na embalagem que permitiu a oxidação do ácido ascórbico.

Para constatação na vida de prateleira de que o oxigênio tem parte no escurecimento das gomas vitaminadas, avaliou-se a efetividade da introdução de sachês absorvedores de oxigênio na embalagem. Estes absorventes de oxigênio estão sendo largamente utilizados no Japão para prevenir a rancificação em alimentos com alto teor de gordura e são sachês compostos de produtos facilmente oxidáveis (BRAMLEY *et al.*, 2000).

A Tabela 10 mostra os resultados da comparação visual entre as gomas recém-fabricadas e com 3 e 6 meses de estocagem em diversas condições, variando-se o tipo de gelatina, a presença de ácido e adição de vitaminas na presença ou não de absorvedores de oxigênio.

TABELA 10: Avaliação visual da cor das gomas embaladas com e sem absorvedores de oxigênio

Mês	A S/VIT C/AC	A C/VIT C/AC	A C/VIT C/AC ABS	B S/VIT C/AC	B S/VIT C/AC ABS	B C/VIT C/AC	B C/VIT C/AC ABS	B C/VIT S/AC	B C/VIT S/AC ABS
0	CL 0,5	CL 1,0	CL 1,0	CL 1,0	CL 1,0	CL 1,0	CL 1,0	CL 1,0	CL 1,0
3	CL 0,5	ES 2,0	ES 2,0	CL 1,0	CL 1,0	ES 4,0	ES 2,0	ES 5,0	ES 3,0
6	CL 1,0	ES 3,5	ES 3,5	CL 1,5	CL 1,5	ES 5,0	ES 3,0	ES 5,0	ES 3,5

(A- gelatina tipo A; B- gelatina tipo B; S/VIT- sem vitamina; C/VIT- com vitamina; C/AC- com ácido; S/AC- sem ácido; ABS- com absorvedor de oxigênio; CL- claras; ES- escuras)

Todas as gomas contendo vitaminas na sua formulação escureceram depois de 3 meses de estocagem, independente do tipo de gelatina, da presença de absorvedores de oxigênio, ausência ou presença de ácido cítrico (ver os códigos "ES" em vermelho na Tabela 10).

Entretanto, na intensidade da cor resultante, avaliada visualmente e comparativamente, houve diferenças entre as condições testadas. As gomas mais escuras são as produzidas com gelatina tipo B (em negrito na Tabela 10). O absorvedor de oxigênio foi efetivo na diminuição da coloração escura em comparação ao padrão sem absorvedor, somente com a gelatina tipo B nos dois casos testados, com e sem ácido na fórmula. As gomas fabricadas com a gelatina tipo A escureceram na mesma intensidade, independente da presença de sachê absorvedor de oxigênio na embalagem.



FOTO 6: Efeito do absorvedor de oxigênio na coloração das gomas de gelatina após 6 meses

A Foto 6 mostra as gomas de gelatina com a gelatina tipo B após estocagem de 6 meses. As gomas da esquerda não foram embaladas com o sachê absorvedor de oxigênio e as da direita na foto foram. Obteve-se, portanto, uma melhora na cor escura dos produtos com a introdução de um sachê na embalagem das gomas com gelatina tipo B.

Os resultados denotam que a presença de oxigênio nas embalagens contendo gomas de gelatina fabricadas dentro do padrão para este trabalho, ou seja, com a gelatina tipo B, foi responsável por parte do escurecimento dos produtos e que este deve ser eliminado para manutenção da atratividade visual das gomas de gelatina.

5.2- ANÁLISES DAS VITAMINAS

A degradação das vitaminas depende de parâmetros específicos durante o processamento e estocagem dos produtos alimentícios tais como temperatura, oxigênio, luz, umidade, pH e tempo (PENTEADO, 2003; KILLEIT, 1994). Combinações destes parâmetros estão presentes na manufatura das gomas de gelatina e sua vida de prateleira.

A incidência de luz, temperatura e umidade foram mantidas constantes durante a estocagem das gomas de gelatina.

Estudou-se portanto a influência da temperatura no processamento das gomas e o pH do produto sobre a estabilidade das vitaminas A, C e E. Também avaliou-se a estabilidade das vitaminas A, C e E durante a estocagem do produto e o efeito da presença de absorvedores de oxigênio na embalagem na concentração da vitamina C após 6 meses.

5.2.1. Padronização das Análises de Vitaminas

As vitaminas A e E foram identificadas com base na comparação do tempo de retenção do pico da amostra com os dos padrões de acetato de retinila convertido a retinol por saponificação e α -tocoferol puro e o método já havia sido padronizado para análise de leites segundo BIANCHINI e PENTEADO (1999).

Além do tempo de retenção, foram comparados os perfis espectrais da amostra de goma de gelatina com um cromatograma do padrão de retinol e obteve-se similaridades entre 0,956 e 0,998 de sobreposição. Para a vitamina E usou-se a técnica de injeção do padrão junto com a amostra de goma para confirmação do tempo de retenção para o α -tocoferol livre.

Inicialmente utilizou-se um fluxo de 1.5mL/minuto e depois foi modificado para 2.0mL para obtenção de menores tempos de corrida.

A pressão ficou entre 79-81 Kgf/cm².

Obteve-se variações nos tempos de retenção e para confirmação e utilização das áreas os padrões foram preparados em duplicata para cada dia de análise conduzida nas gomas. Portanto usou-se para quantificação das vitaminas adicionadas a comparação das áreas dos picos da amostra com as áreas dos padrões.

Os coeficientes de linearidade das curvas (R^2) resultaram em 0,996354 para a vitamina E e 0,999084 para a vitamina A. Os limites de quantificação resultaram em 0,02mcg/mL para o retinol e 0,08mcg/mL para o α -tocoferol.

Obteve-se uma recuperação de 93,5% para vitamina C e 85,0% para a vitamina E adicionando-se os padrões de ácido ascórbico e α -tocoferol na goma de gelatina que já continha vitaminas. Não foi possível utilizar um padrão de retinol para este cálculo pois o padrão disponível não dissolveu nas condições de preparo para a goma.

Obteve-se uma pureza de 90,5% para o padrão SIGMA de α -tocoferol e esta pureza foi utilizada para a determinação das concentrações de α -tocoferol livre, que depois foi convertido para equivalentes de α -tocoferol.

5.2.2. Estabilidade das Vitaminas no Processo

Determinou-se a concentração das vitaminas imediatamente após a manufatura das gomas (tempo zero) e em comparação ao adicionado tem-se quanto foi perdido no processo de fabricação, e portanto, qual é a estabilidade de cada vitamina nas condições específicas do processamento.

Na Tabela 11 estão apresentados os resultados obtidos em comparação ao adicionado.

TABELA 11: Perdas das vitaminas no processamento das gomas de gelatina

	Adicionada (/100g)	Encontrada após Processo (/100g)	Perda Média no Processo (%)
Vitamina A	432 mcg RE	325,72±95,16 mcg RE	25
Vitamina C	32,40 mg	32,14±3,01 mgAA	1
Vitamina E	4,5 mg α TE	3,96±0,51 mg α TE	12

Os resultados obtidos mostram que a vitamina que mais sofreu no processamento da goma foi a vitamina A, perdendo em média 25% em relação ao adicionado, seguida da vitamina E com 12% de perda, sendo que a vitamina C foi muito pouco afetada.

Segundo PENTEADO (2003), a vitamina A é a mais lábil das vitaminas, mas é relativamente estável durante o processamento térmico dos alimentos. RYLEY e KAJDA (1994) mencionam que isolando-se outros efeitos, o aquecimento do acetato de tocoferila não resultou em perdas, mas OTTAWAY (1993) enfatiza que a estabilidade do α -tocoferol é afetada na presença de oxigênio. O ácido ascórbico como mencionado por SELMAN (1994) é estável nas condições de aquecimento usadas no branqueamento de ervilhas, que normalmente está na faixa de 75-95°C por 1-10 minutos.

Vários parâmetros podem ter contribuído para as perdas encontradas no processo das gomas de gelatina para as vitaminas A e E, dentre eles a temperatura de adição das vitaminas à calda e repouso por 30 minutos a 70°C, exposição da calda ao oxigênio durante este período de repouso para retirada das bolhas de ar antes do depósito; exposição à luz no repouso e na secagem à temperatura ambiente por 24 horas nos moldes de amido; a umidade da calda e da goma de gelatina gelificada nos moldes; pH do meio e o tempo do processamento.

A minimização da oxidação química pode ser conseguida durante o processo pela deaeração com vácuo, o que não foi utilizado no procedimento adotado em bancada, mas que é amplamente empregado industrialmente na fabricação de gomas de gelatina, e que poderia diminuir a oxidação das vitaminas.

É possível que no processamento industrial deste confeito, pela menor exposição ao oxigênio e menor tempo de processo que menores perdas das vitaminas possam ocorrer, e portanto sugere-se uma avaliação a nível piloto ou industrial para confirmação dos resultados obtidos em escala laboratorial.

5.2.2.1. Influência da Temperatura de Adição das Vitaminas

Comparou-se o efeito da temperatura de adição das vitaminas a 70° ou a 80°C sobre a concentração inicial das vitaminas A, C e E. Portanto, a estabilidade das vitaminas em relação à temperatura de adição no processamento do confeito foi avaliada no tempo zero, isto é, após processamento das gomas, não sendo acompanhada durante a vida de prateleira do confeito. Os resultados estão na Tabela 12 e ilustrados nos Gráficos 6, 7 e 8.

TABELA 12: Concentrações das vitaminas A, C e E adicionadas a 70°C e 80°C e perdas médias com aumento da temperatura *

	70°C	80°C	Perda Média
Vitamina A (mcg RE/100g)	274,71±68,27	173,79±49,75	37%
Vitamina C (mgAA/100g)	32,75±0,25	29,67±0,14	9%
Vitamina E (mg αTE/100g)	3,00±0,77	3,12±0,79	-

* resultados médios de 8 determinações para as vitaminas A e E e 6 para a vitamina C

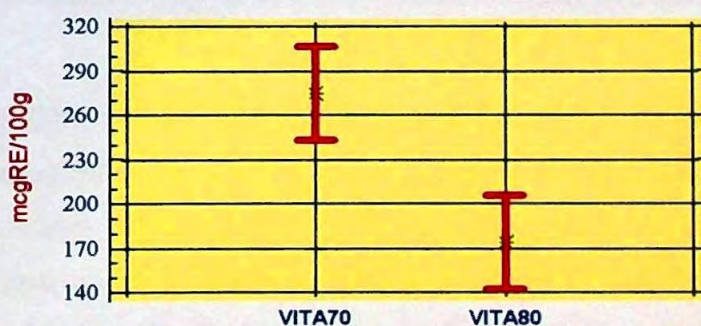


GRÁFICO 6: Efeito da temperatura na concentração de vitamina A

Legenda: VITA70-vitamina A adicionada a 70°C, VITA80-vitamina A adicionada a 80°C

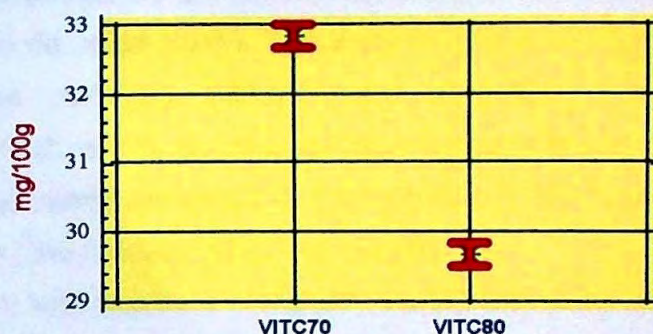


GRÁFICO 7: Efeito da temperatura na concentração de vitamina C

Legenda: VITC70-vitamina C adicionada a 70°C, VITC80-vitamina C adicionada a 80°C

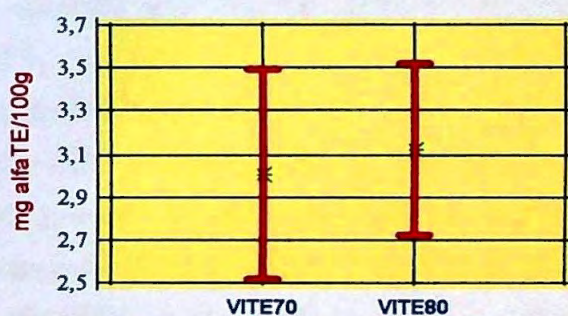


GRÁFICO 8: Efeito da temperatura na concentração de vitamina E

Legenda: VITE70-vitamina E adicionada a 70°C, VITE80-vitamina E adicionada a 80°C

Segundo JACKSON e LEES (1973), o ácido cítrico da formulação de uma goma de gelatina deve ser adicionado através de um sistema de dosagem em linha quando a calda de goma estiver entre 71°C e 82°C, aconselhando as mesmas temperaturas para o depósito da calda nos moldes de amido. As vitaminas em solução aquosa devem ser preferencialmente adicionadas nesta etapa, e portanto entre este intervalo estipulado de temperaturas.

Analisando-se os dados obtidos observou-se que houve uma diminuição média de 37% e 9% na concentrações encontradas para as

vitaminas A e C nas gomas de gelatina, respectivamente, quando a adição das vitaminas e depósito da calda teve a sua temperatura aumentada de 70°C para 80°C. Aconselha-se portanto, sempre que possível, e se a linha de processamento permitir, isto é, se houver como aplicar vácuo para resfriamento a este nível, que as vitaminas sejam adicionadas a 70°C do que a 80°C, para minimizar as perdas decorrentes desta exposição.

A vitamina A está sujeita à oxidação quanto exposta à temperatura e os resultados encontrados para a vitamina A estão de acordo com os relatados por OLSON (1991). Entretanto OTTAWAY (1993), observou que a vitamina A é relativamente estável ao aquecimento. Como esperado, a retenção das vitaminas geralmente diminui com o aumento da temperatura (KILLEIT, 1994) e foi verificada uma retenção inicial da vitamina A de 64% para a temperatura de 70°C enquanto que quando esta temperatura foi aumentada para 80°C, a retenção caiu para 40%.

Obteve-se uma retenção de 101% para 70°C para a vitamina C, resultado inconsistente, pois o valor obtido foi maior do que o adicionado, mas quando as gomas foram expostas pelo mesmo tempo, mas a 80°C a retenção desta vitamina diminuiu para 92%, também seguindo o esperado em geral, que é uma diminuição da retenção com aumentos de temperatura, segundo KILLEIT (1994).

Quanto à vitamina E, obteve-se um desvio muito grande na análise e estatisticamente não é possível dizer que o tocoferol foi afetado pelo incremento na temperatura de depósito da calda. OTTAWAY (1993) cita que os tocoferóis são instáveis ao aquecimento quando na presença de oxigênio e MACHLIN (1991) reporta que a vitamina E é estável ao aquecimento na ausência de oxigênio. Também não é afetada por ácidos em temperaturas até 100°C, o que está de acordo com o encontrado. BALL (1998), cita que a vitamina E é muito estável ao aquecimento e RYLEY e KAJDA (1994) encontraram que o acetato de tocofenila não sofreu perdas quando aquecido.

5.2.2.2. Influência do Ácido Cítrico

Comparou-se o efeito de adição de ácido cítrico ou não na formulação de gomas sobre a concentração das vitaminas no tempo zero; isto é, após preparo e sem estocagem.

Vale ressaltar que as gomas de gelatina são normalmente fabricadas com aromas frutais, que são mais liberados quando estão em pH ácido. Existem entretanto, produtos fabricados com aromas de menta e eucalipto que opcionalmente não levam ácido em sua formulação.

Na Tabela 13 os resultados obtidos com e sem adição de ácido cítrico no processo de fabricação das gomas de gelatina.

TABELA 13: Concentrações das vitaminas A, C e E nas gomas de gelatina com e sem adição de 1,5% de ácido cítrico*

	Com ácido	Sem ácido
pH	3,28±0,03	5,49±0,13
Vitamina A (mcg RE/100g)	309,32±2,01 ^{a**}	374,77±18,08 ^b
Vitamina C (mg AA/100g)	35,48±0,13 ^c	33,50±0,20 ^d
Vitamina E (mg α TE/100g)	3,19±0,01 ^e	3,13±0,02 ^f

* resultados médios de 8 determinações para as vitaminas A e E e 6 para a vitamina C

** médias com letras diferentes são significativamente diferentes a $p < 0,05$

A adição de ácido cítrico foi benéfica para a estabilidade das vitaminas C e E no tempo inicial da vida de prateleira do confeito, pois os teores na goma foram superiores aos obtidos com gomas em pH mais neutro, ou seja, sem adição de ácido na formulação. Por outro lado, os teores de vitamina A foram mais protegidos em meio mais alcalino do que em meio mais ácido.

Para o ácido ascórbico nas gomas com e sem ácido cítrico, os resultados estão em desacordo com MOSER e BENDICH (1991), que reportam

que a variação de maior estabilidade do ácido L-ascórbico está em faixas de pH entre 4 a 6. Por outro lado, OTTAWAY (1993) coloca como intervalo de maior instabilidade para esta vitamina a faixa de pH 4,0 até 4,3 e que a vitamina é instável em pHs abaixo de 7, o que explica em parte os resultados encontrados. SELMAN (1994) relata que para melhorar a estabilidade da vitamina C durante o branqueamento de vegetais, processo que utiliza temperaturas na faixa de 75-95°C, que a acidificação da água tem efeito positivo, o que vem de acordo com os resultados obtidos e melhor estabilidade do ácido ascórbico em meio mais ácido da goma. GREGORY III (1996) também comenta que a acidulação aumenta a estabilidade do ácido ascórbico. RYLEY e KAJDA (1994) citam que um dos fatores que ajudam na retenção de vitamina C em produtos esterilizados é o baixo pH e para HSIEH e HARRIS(1993), a oxidação do ácido ascórbico aumenta com o aumento do pH.

Os resultados para ácido ascórbico apesar de serem válidos para a comparação entre as condições utilizadas de pH, estão acima da concentração adicionada de 32,40 mg. BALL (1998) menciona que algumas substâncias com potencial redutor, como glutatona, cisteína, fenóis, sulfitos, cobre e ferro podem dar um falso alto resultado, mas desde que a titulação seja feita rapidamente, a redução do 2,6-diclorofenolindofenol por estes compostos é lenta e não detectada na análise. Talvez a presença dos metais citados na gelatina tenha contribuído para os resultados obtidos nas gomas nestas condições. Acredita-se que a hipótese de problemas de homogeneização das vitaminas nas gomas possa ser descartada neste caso, pois utilizou-se 50g de gomas para cada análise e esta quantidade é bem representativa dos lotes fabricados que eram de 500g cada.

BALL (1998) e MACHLIN (1991) reportam que a oxidação do tocoferol é acelerada na presença de oxigênio e alcali, o que está de acordo com o encontrado, pois em meio mais alcalino os valores para vitamina E estão menores na goma sem ácido.

Para OTTAWAY (1993) a vitamina A é instável em pHs abaixo de 7. Os resultados estão de acordo aos obtidos por DARY, GUAMUCH E NESTEL (1998) quando a perda de retinol foi maior para o pH 3,81 quando comparado a pH 4,51 em bebidas. Neste trabalho encontrou-se uma perda de 38% para o pH mais ácido em comparação a 33% para o pH mais alto, mas os autores mencionam que o resultado foi contrário ao esperado, mas citam que o retinol é sensível a baixos pHs. Nas gomas obteve-se uma perda inicial de 28% para o pH mais ácido (pH 3,3) em comparação a somente 13% para o pH menos ácido (5,5) de acordo com PENTEADO (2003) que relata que a vitamina A é estável em meio alcalino e sofre isomerização em meio ácido.

5.2.3. Estabilidade das Vitaminas com o Tempo de Prateleira

Comparado com as perdas durante processos térmicos, a estocagem freqüentemente tem um efeito pequeno mas significativa no conteúdo das vitaminas (GREGORY III, 1996).

Na Tabela 14 encontram-se os resultados das concentrações de vitaminas A, C e E expressas como microgramas de retinol equivalente (mcgRE), mg de ácido ascórbico (mgAA) e mg de α -tocoferol equivalente (mg α TE) para 100g de produto final durante o acompanhamento de vida de prateleira por 6 meses.

A atividade de água (Aa) das gomas no tempo zero, ou seja, após secagem, era de $0,726 \pm 0,005$ e os sólidos medidos em refratômetro $79,9 \pm 0,1\%$. Depois de 3 meses de estocagem as gomas resultaram em Aa de $0,709 \pm 0,007$ e sólidos $80,1 \pm 1\%$, denotando que houve uma pequena perda de água dos produtos neste período. Esta situação, entretanto, não é crítica para as vitaminas, que em geral degradam mais com o aumento da umidade e atividade de água (RICHARDSON, 1993; OTTAWAY, 1993). ELIZALDE,

HERRERA e BUERA (2002), encontraram perdas maiores de β -caroteno em matrizes com maiores conteúdos de umidade.

TABELA 14: Concentrações das vitaminas A, C e E com o tempo de prateleira e perda média na estocagem

	Vitamina A (mcgRE/100g)	Vitamina C (mgAA/100g)	Vitamina E (mgαTE/100g)
Inicial (tempo zero)	325,72 \pm 95,16 ⁽³⁰⁾	32,14 \pm 3,01 ⁽¹²⁾	3,96 \pm 0,51 ⁽¹²⁾
1 mês *	246,13 \pm 24,28 ⁽¹⁸⁾	29,06 \pm 0,25 ⁽⁸⁾	3,57 \pm 0,14 ⁽¹⁸⁾
2 meses	218,64 \pm 19,91 ⁽⁸⁾	25,91 \pm 4,71 ⁽¹⁵⁾	2,69 \pm 0,08 ⁽¹²⁾
3 meses	104,08 \pm 17,71 ⁽¹⁸⁾	22,84 \pm 2,05 ⁽¹²⁾	3,40 \pm 0,13 ⁽¹²⁾
4 meses	140,40 \pm 2,08 ⁽⁸⁾	23,18 \pm 1,10 ⁽⁸⁾	2,72 \pm 0,09 ⁽⁴⁾
5 meses	26,08 \pm 2,43 ⁽⁸⁾	19,23 \pm 0,52 ⁽⁸⁾	3,00 \pm 0,08 ⁽⁸⁾
6 meses	24,05 \pm 1,82 ⁽⁸⁾	13,85 \pm 1,61 ⁽⁸⁾	2,99 \pm 0,04 ⁽⁸⁾
Perda média na estocagem	93 %	57%	24%

*Análise conduzida pela Roche nas gomas com 1 mês de vida de prateleira resultou em 187,8mcgRE; 31,5mg/100g de vitamina C e 4,83mg de α TE.

(x) resultados médios de x determinações

Os Gráficos 9, 10 e 11 mostram a análise estatística da variação da concentração das vitaminas durante a vida de prateleira de 6 meses.

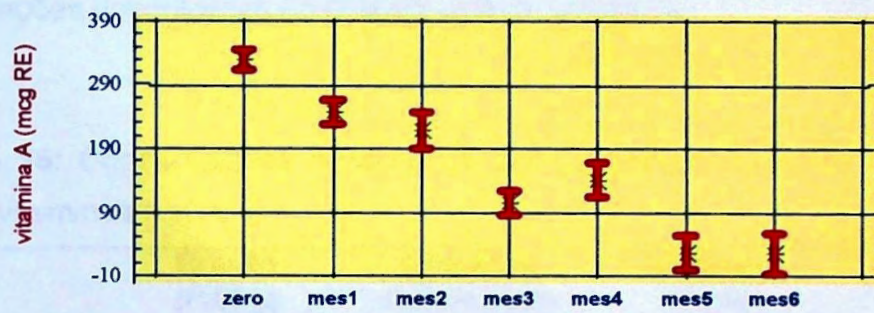


Gráfico 9: Variação da concentração de vitamina A com o tempo de prateleira

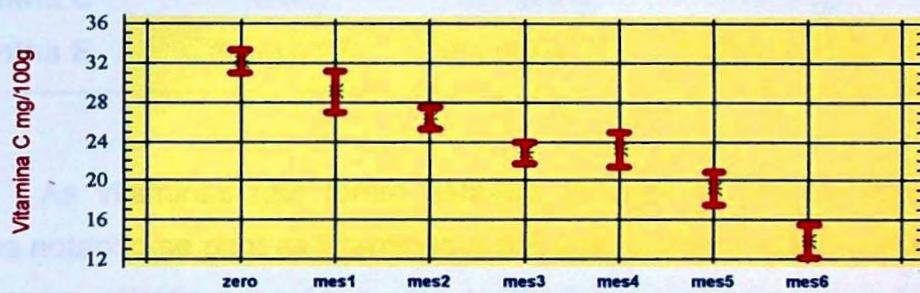


Gráfico 10: Variação da concentração de vitamina C com o tempo de prateleira

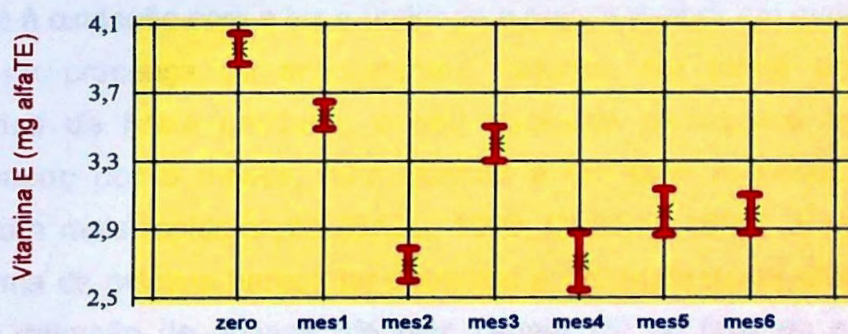


Gráfico 11: Variação da concentração de vitamina E com o tempo de prateleira

Na Tabela 15 os resultados que seriam necessários para a alegação na embalagem de gomas fortificadas com vitaminas A, C e E e as respectivas concentrações encontradas no final da vida de prateleira.

TABELA 15: Concentrações necessárias para alegação no rótulo e retenção para as vitaminas A, C e E

	Rótulo (/100g)	Vitamina Adicionada (/100g)	Vitamina Média Encontrada após 6 meses (/100g)	Retenção (%)
Vitamina A	240 mcg RE	432 mcg RE	24,05 mcg RE	6
Vitamina C	18 mg	32,40 mg	13,85 mg	43
Vitamina E	3 mg α TE	4,5 mg α TE	2,99 mg α TE	66

As vitaminas não foram estáveis durante a vida de prateleira de 6 meses notando-se para as vitaminas A e E uma queda desde o primeiro mês de estocagem (Gráficos 9 e 11) e para a vitamina C em comparação com o tempo zero, depois de 2 meses sua concentração começou a diminuir (Gráfico 10).

A vitamina A na forma de retinol foi muito afetada com a estocagem sendo obtida uma redução média de 93%. Sabe-se que a vitamina A está sujeita à oxidação com a luz e umidade e resiste melhor em meios oleosos, pois está na presença de antioxidantes naturais. Na forma encapsulada, em produtos de baixa umidade, o seu conteúdo permanece em até 90% do adicionado por 6 meses, mas quando a umidade aumenta, a vitamina se deteriora mais rapidamente (BALL, 1998; OLSON, 1991). A umidade residual da goma de gelatina parece ter permitido a oxidação desta vitamina resultando numa retenção de apenas 6% (ver Tabela 15) no final da estocagem de 6 meses e a presença do acetato de tocoferila, na forma de éster de tocoferol, não é efetiva com o propósito de um auxiliador tecnológico atuando como um

antioxidante (MACHLIN, 1991). A acidez da goma, como o verificado durante o estudo do efeito da presença e ausência de ácido cítrico, pode também ter contribuído para as perdas encontradas. Fatores como acesso ao ar, calor, luz, traços de minerais e tempo de estocagem resultam na destruição da vitamina A. Perdas da vitamina A na estocagem de leites UHT foram atribuídas ao oxigênio residual (BALL, 1998). Embora a estabilidade de formas sintéticas de retinol em diferentes tipos de alimentos fortificados tenha sido medida, os resultados nem sempre são fáceis de interpretar pela diversidade de condições ambientais, tempo e forma do retinol usado. DARY, GUAMUCH e NESTEL (1998) reportaram retenção do retinol de 60 a 75% do inicial em produtos líquidos estocados por 6 meses. RYLEY e KAJDA (1994) apontaram uma perda de 30% de ésteres de retinil em leite em pó durante 6 meses a 20°C e em leites fluidos desnatados com 0,15% gordura a vitamina A perdeu 50% do inicial a 26°C em 8 dias e para leites com 0,5% gordura a mesma perda se deu em 3 meses a 5°C, o que foi bem significativo e denota que a gordura tem fator protetivo sobre a vitamina A. Não foi encontrado na literatura nenhum produto que tenha tido tão baixa retenção quanto a encontrada nas gomas.

Durante a estocagem das gomas verificou-se uma perda média de 24% da vitamina E na forma de α -tocoferol. O tocoferol é oxidado muito lentamente na presença de oxigênio e os ésteres de tocoferol são muito mais estáveis nesta condição (BALL, 1998; MACHLIN, 1991). Já segundo KILLEIT (1994) o tocoferol livre é extremamente sensível ao oxigênio, por isto são usados como antioxidantes em óleos e a forma esterificada, como o acetato, é muito estável e perfeita para o enriquecimento. Há uma quantidade residual de oxigênio presente na embalagem que pode ter sido suficiente, pela diminuição das vitaminas na estocagem, pois as embalagens foram protegidas contra a incidência de luz e calor. Outros fatores poderiam afetar a estabilidade desta vitamina, mas foram minimizados pela cobertura das embalagens com papel alumínio e controle da temperatura de estocagem. OTTAWAY (1993) também comenta que o uso de vitaminas que receberam uma cobertura de proteção,

como é o caso do acetato de tocoferila, minimizam a degradação da vitamina em produtos com baixa umidade (como comprimidos), mas são menos efetivas em produtos com níveis mais altos de umidade. Portanto, a umidade residual das gomas de gelatina pode também ter sido responsável pela queda nos teores da vitamina E.

A estocagem por 6 meses das gomas de gelatina promoveu uma perda média de 57% na vitamina C. Esta vitamina é instável com oxigênio dissolvido em solução e a pHs abaixo de 7 (OTTAWAY, 1993), o que correspondeu às condições usadas no experimento com as gomas de gelatina. A oxidação aeróbia da vitamina C na presença de traços de metais de transição, particularmente cobre e ferro, é a reação mais importante na perda da vitamina C (BALL, 1998). RYLEY e KAJDA (1994) relatam que os fatores que ajudam na retenção de vitamina C em produtos esterilizados são o baixo pH, baixa tensão de oxigênio no espaço livre e na solução, baixo nível de íons metálicos e estocagem a baixa temperatura. A gelatina contém menos de 30ppm de ferro e menos de 10ppm de cobre, mas estes metais estão presentes, mesmo que em baixas concentrações na goma. Também para HSIEH e HARRIS (1993), a sacarose tem efeito destrutivo no ácido ascórbico e este deve-se à impurezas metálicas presentes na sacarose em pHs na faixa de 3, o que também vem de encontro com as condições presentes na goma. A utilização de gases inertes, a minimização dos espaços vazios na embalagem, uso de embalagens com permeabilidade controlada ao oxigênio e luz e o uso de agentes seqüestrantes como o EDTA, citratos, sulfitos, BHA e BHT também protegem a vitamina C (BALL, 1998; RYLEY e KAJDA, 1994).

KILLEIT (1994) reportou que o uso de vitamina C, na forma de L-ascorbil-2-polifosfato (AsPP) teve uma boa retenção em produtos extrusados para alimentação de animais e não degradou na estocagem, enquanto formas recobertas com etilcelulose perderam mais atividade.

Tanto a vitamina A como a vitamina C foram sobredosadas em concentrações que não foram suficientes para garantir o declarado no rótulo

quando o produto completou seu tempo de prateleira de 6 meses. Na dosagem utilizada o produto poderia ser estocado por 5 meses no que se refere aos teores de ácido ascórbico, mas em relação à vitamina A somente 2 meses de vida de prateleira garantiriam o declarado no rótulo.

O autor OTTAWAY (1993), comenta que a estimativa de sobredosagens é difícil durante o desenvolvimento do produto e tem que ser baseada em informações históricas de produtos com composição similar, o que não foi possível, visto que não foram encontrados dados em confeitos da mesma classe. Segundo O'BRIEN e ROBERTON (1993) para balas duras, que contém uma umidade residual muito mais baixa, as perdas de vitaminas não são maiores do que 15-20% durante um período de 6 meses a 1 ano e para gomas de amido, com umidade maior, os mesmos autores mencionam dados de perdas de 10% para as vitaminas A e C, inferiores aos valores encontrados.

Pode-se dizer que as vitaminas mais lábeis, A e C, irão determinar a vida de prateleira das gomas de gelatina, e OTTAWAY (1993) comenta que estas vitaminas normalmente ditam o "shelf life" de produtos.

Vale ressaltar que a temperatura de estocagem de 20°C foi escolhida para o estudo de vida de prateleira em condições controladas, entretanto, caso o produto fosse comercializado em temperaturas mais elevadas, quedas maiores nas vitaminas poderiam ser esperadas. Na estocagem em temperaturas elevadas as gomas de gelatina podem amolecer, melar e até fundir dependendo da formulação utilizada. O mesmo autor (OTTAWAY, 1993) cita que os níveis de vitaminas podem variar significativamente quando produtos são mantidos em condições tropicais em detrimento de estocagens em climas mais temperados. MARCHETTI *et al.* (2000), obtiveram em geral maiores deteriorações de várias vitaminas, incluindo o retinol, ácido ascórbico e tocoferol em misturas estocadas a 37°C quando comparadas a temperaturas de estocagem de 20°C.

A resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, RDC número 40, de 21 de março de 2001 reporta a tolerância de até 20% para mais ou para

menos, nos valores constantes na informação nutricional declarada no rótulo (BRASIL, 2001), e mesmo considerando-se este fato as vitaminas A e C não atingiriam o necessário no final do "shelf life".

Baseado nos resultados obtidos, o laboratório Roche foi novamente consultado e novas sobredosagens foram sugeridas para que o produto pudesse chegar ao final da vida de prateleira com as concentrações de vitaminas de acordo com o necessário para declaração no rótulo. Com a retenção média de vitamina C de 43% neste período seria necessário adicionar 42,8 mg de vitamina C para esta finalidade o que corresponde a uma sobredosagem de aproximadamente 140%; portanto adicionou-se 43,2mg/100g que corresponde exatamente a uma sobredosagem de 140%. Já no caso da vitamina A como houve uma perda muito grande no decorrer da vida de prateleira do produto a Roche sugeriu substituir o acetato de retinila por palmitato de retinila e sobredosar em 200%. Para comparação, amostras de gomas com acetato de retinila também foram preparadas nesta sobredosagem. Adicionou-se 9,60mg/100g de palmitato de vitamina A e 7,38mg/100g de acetato de vitamina A. Mesmo com estas sobredosagens altas, as gomas ainda contém na adição, sem considerar perdas, concentrações das vitaminas A e C inferiores a 100% da IDR, classificando-as portanto como alimentos e não como medicamentos de acordo com a legislação vigente.

Quando completaram 2 meses de estocagem, as gomas foram analisadas segundo métodos utilizados pelo fabricante de vitaminas e ficou comprovado que mesmo sobredosando em 200% a vitamina A, independente do tipo, resultou em valores médios abaixo do "claim" (240 mcg RE); encontrou-se 198,9mg RE para as gomas com palmitato e 196,8 mcg RE para as gomas com acetato e o produto não atingiria o "shelf-life" de 6 meses de vida de prateleira. Em relação à vitamina C os resultados encontrados foram superiores aos adicionados (43,2 mg/100g), e para a goma com palmitato obteve-se 43,6mg/100g e para a goma com acetato 47,1mg/100g. Considerando-se uma

perda média de 57% em 6 meses, a goma chegaria ao final da vida de prateleira dentro do declarado no rótulo (18mg/100g).

Para o caso da vitamina A, como a sobredosagem já está em níveis muito elevados, seria aconselhável outros estudos para viabilização do seu uso nesta aplicação, ou alternativamente, apesar do efeito sobre a cor da goma, adicionar β -caroteno. Outra opção seria a eliminação desta vitamina e manutenção somente das vitaminas C e E, sem prejuízo no apelo do uso de vitaminas antioxidantes.

Sugere-se usar nitrogênio na embalagem da goma para eliminação do oxigênio residual ou modificar o produto pela aplicação de alguma cobertura, tipo chocolate ou drageada, que pudesse proteger o produto da exposição ao ar. O tipo de embalagem utilizado também deve ser escolhido quanto à uma menor permeabilidade ao oxigênio.

5.2.3.1. Influência de Absorvedores de Oxigênio na Embalagem

Conforme já descrito no item 5.1.4, a adição de um sachê absorvedor de oxigênio dentro da embalagem das gomas foi efetivo na diminuição do escurecimento das gomas fabricadas com gelatina tipo B.

O aumento da tonalidade marrom e escura nas gomas de gelatina apareceu depois de 3 meses de estocagem. Os autores O'BRIEN e ROBERTON (1993), relatam que em gomas de mascar quando ascorbato de sódio foi usado, a cor marrom apareceu depois de 12 meses, entretanto a retenção da vitamina C foi muito boa. RYLEY e KAJDA (1994) comentaram que o escurecimento de sucos de frutas se processa mais rapidamente quanto maior for a concentração de oxigênio inicial, e que a degradação do ácido ascórbico é diretamente proporcional à concentração inicial de oxigênio dissolvido. Entretanto, o escurecimento mais significativo somente ocorre

depois que grande parte do ácido ascórbico é reduzido, o que pode estar acontecendo após 3 meses de estocagem do produto.

O teor de ácido ascórbico nas gomas fabricadas com gelatina tipo B foi avaliado após 6 meses. As mesmas gomas, do mesmo processamento, foram embaladas com e sem absorvedores de oxigênio. Foram obtidos $19,39 \pm 0,47$ mg de AA/100g de goma de gelatina sem a utilização de absorvedores contra $25,67 \pm 0,28$ mg AA/100g com um sachê dentro da embalagem.

Com a introdução de um sachê absorvedor de oxigênio obteve-se na estocagem de 6 meses uma perda de ácido ascórbico menor em comparação ao produto sem o sachê. Foi obtida uma perda na estocagem, considerando-se uma concentração média inicial de ácido ascórbico de 32,14 mg/100g, de 40% sem absorvedor em comparação a 20% nos produtos com absorvedor.

A vitamina C, expressa em ácido ascórbico, teve neste processamento uma retenção média de 60% sem absorvedor de oxigênio contra 79% com absorvedor. Nota-se que apesar de termos considerado dois processamentos mínimos no acompanhamento da vida de prateleira, que os resultados obtidos neste processamento diferiram em relação à retenção de vitamina C, que foi de 43% no caso anterior. Por estes resultados a vitamina C estaria dentro do estipulado no rótulo que é 18 mg de ácido ascórbico e encontramos 19,39 mg/100g.

A eliminação de oxigênio na embalagem via a introdução deste sachê mostrou-se efetiva na proteção da vitamina C e conseqüentemente na diminuição do escurecimento das gomas fabricadas com gelatina tipo B.

6- CONCLUSÕES

- Após processamento, as vitaminas A, C e E não afetaram a qualidade das gomas de gelatina em relação à turbidez e dureza
-

- A análise visual e instrumental mostrou que a vitamina E contribuiu para o aumento da turbidez das caldas de goma de gelatina, mas este defeito não pode ser percebido no produto final.
- A vitamina E 15% CC não se mostrou efetiva na melhora da claridade das caldas das gomas em comparação ao tipo 50% CWS
- A goma vitaminada escurece com o tempo de prateleira, sendo a vitamina C a responsável pelo defeito apresentado no confeito, o que foi observado visualmente.
- A luz não pode ser responsabilizada pelo escurecimento dos produtos com a vida de prateleira.
- Todas as gomas contendo as vitaminas A, C e E na sua formulação escureceram depois de 3 meses de estocagem, independente do tipo de gelatina, da presença de absorvedores de oxigênio na embalagem, ausência ou presença de ácido cítrico.
- A presença de oxigênio na embalagem contendo gomas de gelatina com gelatina tipo B, foi responsável por parte do escurecimento dos produtos.
- A introdução de um sachê absorvedor de oxigênio na embalagem resultou em perdas menores no teor de ácido ascórbico com o período de 6 meses de vida de prateleira em relação ao produto sem absorvedor.
- A vitamina A foi a mais afetada no processamento das gomas de gelatina, perdendo em média 25% em relação ao adicionado, seguida da vitamina E que teve uma perda de 12% e da vitamina C com 1% de perda.
- O aumento na temperatura de depósito da calda de goma de gelatina afetou negativamente a concentração das vitaminas A e C, que tiveram uma perda de 37% e 9% quando a adição das vitaminas foi efetuada à 80°C ao invés de 70°C, recomendando-se conduzir esta etapa à 70°C desde que as condições de processo o permitam.
- A produção alternativa de gomas de gelatinas sem a introdução de ácido cítrico na formulação com o propósito de minimizar perdas nas

concentrações das vitaminas utilizadas não foi benéfica para as vitamina C e E.

- As vitaminas não foram estáveis durante a vida de prateleira notando-se para a vitaminas A e E uma queda desde o primeiro mês de estocagem e para a vitamina C a partir do segundo mês, quando comparadas com o tempo zero, isto é, após processamento.
- Na estocagem de 6 meses obteve-se uma queda média de 93% da vitamina A, 57% para a vitamina C e 24% da vitamina E.
- Somente até 2 meses da vida de prateleira a vitamina A estaria dentro do declarado no rótulo e a vitamina C até 5 meses.
- Tanto a vitamina A como a C não foram sobredosadas em concentrações suficientes para garantir o declarado no rótulo até 6 meses numa estocagem controlada a 20°C. Estas vitaminas, portanto irão ditar a vida de prateleira das gomas de gelatina com vitaminas A, C e E.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGUS, F. Nutrient fortification. **Food Ingredients Anal. Int.**, Hertfordshire, v.21, p.19-23, 1999.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CHOCOLATES, CACAU, BALAS E DERIVADOS. Estatísticas. Consumo aparente – Chocolates, Balas e Confeitos. Disponível em: <http://www.abicab.org.br/estatisticas.htm>. Acesso em: 31/05/03.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Arlington: A.O.A.C., 1990. p.1058-1059.
- BALL, G.F.M. **Bioavailability and analysis of vitamins in foods**. London, New York: Chapman & Hall, 1998. 569p.
- BASU, T.K.; DICKERSON, J.W.T. **Vitamins in human health and disease**. Wallingford: CAB International, 1996. 345p.
- BIANCHINI, R.; PENTEADO, M.V.C. Teores de retinol, β -caroteno, e α -tocoferol em leites bovinos comercializados na cidade de São Paulo. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.13, n.3, p.349-355, 1999.
- BLOMHOFF, R. Overview of vitamin A metabolism and function. In: _____, ed. **Vitamin A in health and disease**. New York: Marcel Dekker, 1994. cap.1, p.1-35. (Antioxidants in Health and Disease, 1)

BRAMLEY, P.M.; ELMADFA, I.; KAFATOS, A.; KELLY, F.J.; MANIOS, Y.; ROXBOROUGH, H.E.; SCHUCH, W.; SHEEHY, P.J.A.; WAGNER, K.-H. Vitamin E. **J. Sci. Food Agric.**, Bognor Regis, v.80, n.7, p.913-938, 2000. [Review].

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. Resoluções. Resolução RDC n.40, de 21 de Março de 2001. IDR-Ingestão Diária Recomendada. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/40_01rdc.htm. Acesso em: 28/05/01.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. Portarias. Portaria n.33, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento técnico para rotulagem nutricional obrigatória de alimentos e bebidas enlatados. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/33_98.htm. Acesso em: 04/06/01.

BUISSON, D.H. The challenges of nutraceuticals: food fad or future trends? **Manuf. Confec.**, Glen Rock, v.79, n.5, p.51-61, 1999.

CASTRO, I.A.; SILVA, R.S.S.F.; TIRAPEGUI, J.; BORSATO, D.; BONA, E. Simultaneous optimization of response variables in protein mixture formulation: constrained simplex method approach. **Int. J. Food Sci. Technol.**, Oxford, v.38, n.2, p.103-110, 2003.

CASTRO, I.A.; TIRAPEGUI, J.; SILVA, R.S.S.F. Application of multivariate statistical methods to the analysis of the cost, nutritional and sensorial quality for some proteins used in food formulations. **J. Food Qual. Trumbull**, v.25, n.1, p.83-90, 2002.

- COLTRO, L.; SÃO PAULO (ESTADO). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Centro de Tecnologia de Cereais e Chocolate. **Tendências em embalagens para balas e confeitos de goma**. São Paulo: ITAL, 1999. p.87-94. (Manual técnico de tecnologia de fabricação de balas, n.17).
- CONFECTIONERY innovation drives the market. **Food Ind. Bull.**, Leatherhead, n.131, April, 2000.
- CLAIMS and evidence: 20 key facts. Functional foods, 1999. In: **BNF/Royal Society of Chemistry Conference**. p.1-4. Disponível em: <http://www.nutrition.org.uk/news/keyfacts/functionalfoods.htm>. Acesso em: 08 set. 1999.
- DARY, O.; GUAMUCH, M.; NESTEL, P. Recovery of retinol in soft drink beverages made with fortified unrefined and refined sugar: implications for national fortification programs. **J. Food Compos. Anal.**, Orlando, v.11, n.3, p.212-220, 1998.
- DJAGNY, K.B.; WANG, Z.; XU, S. Gelatin: a valuable protein for food and Pharmaceutical Industries. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, Fort Lauderdale, v.41, n.6, p.481-492, 2001. [Review].
- EISON-PERCHONOK, M.H.; DOWNES, T.W. Kinetics of ascorbic acid autoxidation as a function of dissolved oxygen concentration and temperature. **J. Food Sci.**, Chicago, v.47, p.765-773, 1982.
- ELIZALDE, B.E.; HERRERA, M.L.; BUERA, M.P. Retention of β -carotene encapsulated in a trehalose-based matrix as affected by water content and sugar crystallization. **J. Food Sci.**, Chicago, v.67, n.8, p-3039-3045, 2002.

- ELLIOTT, J.G. Application of antioxidant vitamins in food and beverages. **Food Technol.**, Chicago, v.53, n.2, p.46-48, 1999.
- ESKIN, N.A.M. Biochemistry of food processing: browning reactions in foods. In: _____, ed. **Biochemistry of foods**. 2.ed. San Diego: Academic Press, 1990. cap.5, p.239-296.
- EYRES, L. Potential nutritional/functional opportunities for confectionery. **N. Z. Food J.**, Whangarei, v.30, n.3, p.156-160, 2000.
- GARCIA, T. Analysis of gelatin-based confections. **Manuf. Confect.**, Glen Rock, p.93-101, June, 2000.
- GESTER, H. Vitamin A: functions, dietary requirements and safety in humans. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, Bern, v.67, p.71-80, 1997. [Review].
- GREGORY III, J.F. Vitamins. In: FENNEMA, O.R., ed. **Food chemistry**. 3.ed. New York: Marcel Dekker, 1996. cap.8, p.531-616.
- HSIEH, Y.H.P.; HARRIS, N.D. Effect of sucrose on oxygen uptake of ascorbic acid in a closed aqueous system. **J. Agric. Food. Chem.**, Columbus, v.41, p.259-282, 1993.
- HOLLINGSWORTH, P. Retargeting candy as functional food. **Food Technol.**, Chicago, v.53, n.12, p.30, 1999.
- INNOVATION trends. **Kennedy's Confect.**, London, p.8, May, 2001.
- JACKSON, E.B.; LEES, R., eds. **Sugar confectionary and chocolate manufacture**. Saint Edmundsbury: Press Limited, 1973. 379p.
- KATZ, F. Confectionery marketing changes require new packages. **Food Technol.**, Chicago, v.52, n.4, p.102-104, 1998.

- KILLEIT, U. Vitamin retention in extrusion cooking. **Food Chem.**, Oxford, v.49, p.149-155, 1994.
- LEE, H.S.; COATES, G.A. Measurement of total vitamin C activity in citrus products by HPLC: a review. **J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.**, New York, v.22, n.15, p.2367-2387, 1999.
- MACHLIN, L.J. Vitamin E. In: _____ ed. **Handbook of vitamins: nutritional, biochemical, and clinical aspects**. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 1991. cap.3, p.99-146.
- MARCHETTI, M.; DEWAYNE-ASHMEAD, H.; TOSSANI, N.; MARCHETTI, S.; ASHMEAD, S.D. Comparison of the rates of vitamin degradation when mixed with metal sulphates or metal amino acid chelates. **J. Food Compos. Anal.**, Orlando, v.13, n.6, p.875-884, 2000.
- MORENO, F.S.; WU, T.S.; PENTEADO, M.V.C.; RIZZI, M.B.S.L.; JORDÃO Jr., A.A.; ALMEIDA-MURANDIAN, L.B.; DAGLI, M.L.Z. A comparison of β -carotene and vitamin A effects on a hepatocarcinogenesis model. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, Bern, v.65, n.2, p.87-94, 1995.
- MORENO, F.S.; RIZZI, M.B.S.L.; DAGLI, M.L.Z.; PENTEADO, M.V.C. Inhibitory effects of β -carotene on preneoplastic lesions induced in Wistar rats by the resistant hepatocyte model. **Carcinogenesis**, Oxford, v.12, n.10, p.1817-1822, 1991.
- MOSER, U.; BENDICH, A. Vitamin C. In: MACHLIN, L.J. **Handbook of vitamins: nutritional, biochemical, and clinical aspects**. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 1991. cap.5, p.195-199.
- MOSKOWITZ, R.W. Role of collagen hydrolysate in bone and joint disease. **Semin. Arthritis and Rheum.**, Orlando, v.30, n. 2, p. 87-99, 2000
-

- NUTRACEUTICAL Challenges. **Candy Bus.**, Cathedral City, p.16-18, March/April, 2000.
- O'BRIEN, A.; ROBERTON, D. Vitamins fortification of foods (specific applications). In: OTTAWAY, P.B., ed. **The technology of vitamins in food**. London, New York: Blackie Academic and Professional, 1993. cap.6, p.114-142.
- OLSON, J.A. Vitamin A. In: MACHLIN, L.J., ed. **Handbook of vitamins: nutritional, biochemical, and clinical aspects**. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 1991. cap.1, p.1-57. (Food science and technology, 40).
- OTTAWAY, P.B. Stability of vitamins in foods. In: _____. **The technology of vitamins in food**. London, New York: Blackie Academic and Professional, 1993. cap.5, p.91-113.
- PAIXÃO, J.A. Enriquecimento e fortificação de alimentos. **Bol. Soc. Bras. Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.32, n.1, p.48-55, 1998.
- PENTEADO, M.V.C. **Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. Barueri: Manole, 2003. cap.2, p.56-74, cap.4, p.123-164 e cap.6, p.201-225.
- PETTITT, B. **The international 'healthy' confectionery market**. Leatherhead: Leatherhead Food RA, Market Intelligence Section, 1999. 71p. (Special report).
- POPPE, J. Gelatine and jelly confectionery. **Manuf. Confect.**, Glen Rock, November, p.36-42, 1985.
-

- PRADO, M.E.T.; CHANDRA, P.K.; BICALHO, U.O. Desenvolvimento de um modelo matemático para estimar a degradação de vitamina C durante o armazenamento de alimentos de umidade intermediária. **Clenc. Technol. Aliment.**, Campinas, v.15, n.2, p.138-143, 1995.
- PSZCZOLA, D.E. The ABCs of nutraceutical ingredients. **Food Technol.**, Chicago, v.52, n.3, p.30-37, 1998a.
- PSZCZOLA, D.E. Addressing functional problems in fortified foods. **Food Technol.**, Chicago, v.52, n.7, p.38-46, 1998b.
- QUEIROZ, M.B.; SÃO PAULO (ESTADO). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Centro de Tecnologia de Cereais e Chocolate. **Balas de gomas e doces gelificados: ingredientes e tecnologia de fabricação.** São Paulo: ITAL, 1999. p.39-49 (Manual técnico de tecnologia de fabricação de balas, n.17).
- RICHARDSON, D.P. Food fortification. In: OTTAWAY, P.B. **The technology of vitamins In food.** London, New York: Blackie Academic and Professional, 1993. cap.9, p.237-241.
- RIZZI, M.B.S.L.; DAGLI, M.L.Z.; JORDÃO Jr., A.A.; PENTEADO, M.V.C.; MORENO, F.S. Beta-carotene inhibits persistent and stimulates remodeling gama GT-positive preneoplastic lesions during early promotion of a hepatocarcinogenesis. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, Bern, v.67, p.415-422, 1997.
- RIZZI, M.B.S.L.; DAGLI, M.L.Z.; JORDÃO Jr., A.A.; PENTEADO, M.V.C.; MORENO, F.S. Effects of beta-carotene on GGT-positive preneoplastic lesions during early promotion of hepatocarcinogenesis. **Med., Biol., Environ.**, Pavia, v.26, n.2, p.215-219, 1998.

- RYLEY, J.; KAJDA, P. Vitamins in thermal processing. **Food Chem.**, Oxford, v.49, p.119-129, 1994.
- SELMAN, J.D. Vitamin retention during blanching of vegetables. **Food Chem.**, Oxford, v.49, p.137-147, 1994.
- SNYDER, L.R.; KIRKLAND, L.L. **Introduction to modern liquid chromatography**. 2.ed. New York: Wiley, 1979. 863p.
- SWEETMAKER. Jellies. **Confect. Prod.**, Surbiton, v.47, n.4, p.155-159, 1981.
- SWIENTEK, B. Nutrition wars (functional food and nutritional markets - industry overview). **Prep. Foods**, Des Plaines, v.169, n.1, p.28, 2000.
- THE UNSUNG hero. **Funct. Foods**, Lancaster, p.10-12, June, 2000.
- TSAO, C.S. An overview of ascorbic acid chemistry and biochemistry. In: PACKER, L.; FUCHS, J., eds. **Vitamin C in health and disease**. New York: Marcel Dekker, 1997. cap.2, p.25-31. (Antioxidants in health and disease, 5).
- UNWRAPPING the global market. In: INTERNATIONAL CONFECTIONERY CONGRESS' 99, November, 3, 1999, London. **Anais**. London: Agra Europe, 1999.
- VIDAL-VALVERDE, C.; RUIZ, R. Effect of frozen and other storage conditions on α -tocoferol content of cow milk. **J. Dairy Sci.**, Savoy, v.76, n.6, p.1520-1525, 1993.
- VIEIRA, M.C.; TEIXEIRA, A.A.; SILVA, C.L.M. Mathematical modeling of the thermal degradation kinetics of vitamin C in cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) nectar. **J. Food Eng.**, Oxford, v.43, p.1-7, 2000.
-

VISSOTTO, F.Z.; JARDIM, D.C.P.; SÃO PAULO (ESTADO). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Centro de Tecnologia de Cereais e Chocolate. **Vida-de-prateleira de produtos tipo confectionery**. São Paulo: ITAL, 1999. p.79-85. (Manual técnico de tecnologia de fabricação de balas, n.17).

VITAMINS and light. **Food Mark. Technol.**, Noremberg, v.13, n.5, p.40-41, 1999.

WALTER, P. Vitamin requirements and vitamin enrichment of foods. **Food Chem.**, Oxford, v.49, p.113-117, 1994.

WIENEN, W.; KATZ, F.R. Factors affecting gel strength of gum candies. In: ANUAL PRODUCTION CONFERENCE, 45, Pennsylvania, 1991. **Papers and discussions**. Perkiomenville: PMCA, 1991. p.146-153. (Proceedings of the annual production conference - Pennsylvania Manufacturing Confectioners Association).

8- RESUMO

O aumento da consciência da sociedade pela saúde tem levado ao desenvolvimento de vários setores, inclusive o dos confeitos fortificados. Quando um alimento é fortificado com vitaminas utiliza-se da sobredosagem para assegurar os níveis requeridos pela legislação e declarados na embalagem, considerando-se as perdas decorrentes do processo de fabricação e vida de prateleira. Este estudo teve como objetivo verificar a estabilidade das vitaminas A, C e E, na forma de acetato de vitamina A, ácido ascórbico e acetato de vitamina E, sobredosadas em 80%, 80% e 50% respectivamente na fortificação de confeitos do tipo gomas de gelatina, fornecendo 30% da IDR destas vitaminas em 100g de produto. As vitaminas adicionadas não afetaram a qualidade das gomas de gelatina em relação à textura e claridade, parâmetros estes avaliados após processamento, mas as gomas de gelatina vitaminadas escureceram com o tempo de prateleira, sendo a vitamina C a responsável pelo defeito apresentado. A presença de oxigênio na embalagem pode ser responsabilizada por parte do escurecimento, o que foi comprovado pelo uso de sachês absorvedores de oxigênio. Houve uma perda média no processamento de vitamina A de 25% em relação ao adicionado, seguida da vitamina E com 12% e vitamina C com 1%. Aumentando-se a temperatura de depósito da calda das gomas, de 70°C para 80°C encontrou-se uma diminuição na concentração da vitamina A de aproximadamente 37% e de 9% para a vitamina C. A eliminação do ácido cítrico da formulação das gomas com o propósito de minimizar perdas no processo não foi benéfica para as vitaminas C e E. Na estocagem de 6 meses obteve-se uma queda média de 93% da vitamina A, 57% para a vitamina C e 24% da vitamina E. Verificou-se portanto que as vitaminas A e C irão ditar a vida de prateleira das gomas de gelatina e não foram sobredosadas em concentrações suficientes para garantir o declarado no rótulo até 6 meses numa estocagem controlada a 20°C.



9- SUMMARY

The increasing consciousness of the society for the health has lead to the development of several sectors, including the sector of fortified confectionery. When food is fortified with vitamins overages are used to guarantee the level required by legislation and declared in the package, considering losses due to the manufacturing process and shelf life. This study had as objective to verify the stability of vitamins A, C and E, in the form of vitamin A acetate, ascorbic acid and vitamin E acetate, with overages at 80%, 80% and 50% respectively in gelatin gums confectionery type, supplying 30% of RDI of these vitamins in 100g product. The added vitamins did not affect the quality of gelatin gums in relation to the texture and clarity, which were analyzed after processing; however, the gums with vitamins became brown with shelf life, being vitamin C the responsible for the presented defect. The presence of oxygen in the package could be responsible by part of the browning, which was proved by the use of oxygen absorbents. There were an average loss of vitamin A of 25% in relation to the initially added, followed by vitamin E with 12% and vitamin C with 1% loss. Increasing the gum syrup depositing temperature from 70 to 80°C, it was found a decrease of approximately 37% in vitamin A concentration and 9% for vitamin C. The citric acid elimination of the gum formulation with the proposal to minimize losses in processing was not beneficial for the vitamins C and E. In a storage time of 6 months it was obtained an average drop of 93% in vitamin A, 57% in vitamin C and 24% in vitamin E contents. Consequently, the vitamins A and E will dictate the shelf life of gelatin gums and they were not applied in enough overages concentrations to guarantee the labeling until 6 months of storage controlled at 20°C.