



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**AVALIAÇÃO DO USO DE CONSERVANTES SOBRE A
ESTABILIDADE MICROBIOLÓGICA DE ÁGUA DE COCO
CARBONATADA**

Eliene Penha Rodrigues Pereira

(Engenheira de Alimentos)

Prof. Dr. José de Assis Fonseca Faria

(Orientador)

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em
Tecnologia de Alimentos.

Campinas-SP, 2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

P414a Pereira, Eliene Penha Rodrigues
Avaliação do uso de conservantes sobre a estabilidade
microbiológica de água de coco carbonatada / Eliene Penha Rodrigues
Pereira. -- Campinas, SP: [s.n.], 2010.

Orientador: José de Assis Fonseca Faria
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Água de coco. 2. Carbonatação. 3. Sorbato de potássio. 4.
Metabissulfito de sódio. I. Faria, José de Assis Fonseca. II.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de
Alimentos. III. Título.

(cars/fea)

Título em inglês: Evaluation of the use of preservatives on the microbiological stability of
carbonated coconut water

Palavras-chave em inglês (Keywords): Coconut water, Carbonatation, Potassium sorbate, Sodium
metabisulfite

Titulação: Mestre em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora: José de Assis Fonseca Faria

Carlos Alberto Rodrigues dos Anjos

Antonio Carlos Dantas Cabral

Programa de Pós Graduação: Programa em Tecnologia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José de Assis Fonseca Faria
(Orientador)

Prof. Dr. Antonio Carlos Dantas Cabral
(Membro)

Prof. Dr. Carlos Alberto Rodrigues Anjos
(Membro)

Prof. Dr. Flávio Luis Schmidt
(Membro)

Dr. Hector Abel Palacios Cabrera
(Membro)

*O temor do Senhor é o princípio do conhecimento;
mas os insensatos desprezam a sabedoria e a instrução.*

(Prov. 1:7)

Dedico este trabalho ao meu amor, Antônio Carlos,
pelo carinho e compreensão, aos amigos
e familiares pelo apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelas conquistas alcançadas;

À Universidade Estadual de Campinas, à Faculdade de Engenharia de Alimentos e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos pela oportunidade;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida;

Ao Prof. Assis pelo apoio, orientação e amizade;

Aos professores membros da banca examinadora pelas orientações e correções que enriqueceram o trabalho;

Aos técnicos Alice, Ana Lourdes, Diana, Diego e Renata pelo apoio técnico;

Aos colegas de laboratório, e principalmente às amigas Clívia e Emanuele pelos momentos inesquecíveis de descontração e companheirismo.

À Clívia também agradeço pelo imenso apoio nos dias de processamento em planta piloto.

MUITO OBRIGADA!

SUMÁRIO

SUMÁRIO	xi
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xv
RESUMO	xix
ABSTRACT	xxi
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Água de coco	3
2.2 Mercado do coco e da água de coco no Brasil	3
2.3 Variedades de coco para extração da água	5
2.3.1 Variedade gigante	5
2.3.2 Variedade anã	5
2.3.3 Variedade híbrida	6
2.4 Características físico-químicas da água de coco	7
2.5 Produtos comerciais de água de coco	9
2.5.1 Água de coco <i>in natura</i>	9
2.5.2 Água de coco envasada	10
2.5.2.1 Água de coco envasada e refrigerada	10
2.5.2.2 Água de coco envasada e congelada	11
2.5.2.3 Água de coco envasada e mantida à temperatura ambiente	11
2.5.2.4 Outros métodos de conservação	12
2.6 Aspectos importantes na industrialização da água de coco	13
2.6.1 Microbiologia da água de coco	13
2.6.2 Boas práticas de fabricação	14
2.6.3 Extração da água de coco	15
2.7 Escurecimento enzimático da água de coco	15
2.8 Resíduos provenientes da extração da água de coco	18
2.9 Legislação para água de coco	19
2.10 Carbonatação	19
2.10.1 Dióxido de carbono	20

2.10.2	Carbonatação de bebidas	21
2.10.3	Embalagens para produtos carbonatados	22
2.11	Conservação química	23
2.11.1	Dióxido de enxofre e sulfitos	25
2.11.2	Ácido benzóico e benzoatos	26
2.11.3	Ésteres do ácido para-hidroxi-benzóico ou parabenos	27
2.11.4	Ácido sórbico e sorbatos	28
3	MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1	Material	29
3.1.1	Água de coco	29
3.1.2	Ingredientes da formulação	29
3.1.3	Embalagens	30
3.1.4	Equipamentos	30
3.1.4.1	Extrator da água de coco	30
3.1.4.2	Pasteurizador	31
3.1.4.3	Carbonatador	31
3.2	Metodologia	32
3.2.1	Higienização da matéria-prima	32
3.2.2	Extração da água	33
3.2.3	Formulação	34
3.2.4	Clarificação	34
3.2.5	Tratamento térmico e resfriamento	34
3.2.6	Carbonatação	34
3.2.7	Acondicionamento	35
3.2.8	Avaliação da estabilidade	35
3.2.9	Delineamento experimental	35
3.3	Análises físico-químicas da água de coco carbonatada	36
3.3.1	Volume de carbonatação	36
3.3.2	Potencial de hidrogênio (pH)	37
3.3.3	Oxigênio dissolvido	37
3.3.4	Gás carbônico dissolvido	37

3.3.5	Sólidos solúveis	37
3.3.6	Acidez titulável	38
3.3.7	Ácido ascórbico.....	38
3.3.8	Cor e turbidez	38
3.3.9	Atividade enzimática	39
3.3.10	Análises microbiológicas.....	40
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1	Primeiro processamento	41
4.1.1	Conclusão	50
4.2	Segundo processamento	51
4.2.1	Conclusão	75
4.3	Terceiro processamento	77
4.3.1	Conclusão	85
5	CONCLUSÕES.....	86
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Faixa de variação do volume de água, pH, acidez, sólidos solúveis totais (°Brix), açúcares redutores e não redutores da água de coco anão verde de seis cultivares selecionados do 5º ao 12º mês de maturação.....	8
Tabela 2 - Faixa de variação do teor de minerais e vitamina C da água de coco verde de seis cultivares selecionados do 5º ao 12º mês de maturação.....	9
Tabela 3 - Conservantes químicos permitidos para bebidas.....	24
Tabela 4 - Valores utilizados no DCCR do segundo processamento para dois fatores.....	36
Tabela 5 - Matriz do planejamento 2 ² do segundo processamento (valores codificados).....	36
Tabela 6 - Matriz do planejamento 2 ² do segundo processamento (valores reais).....	36
Tabela 7 - Composição das amostras do primeiro processamento.....	41
Tabela 8 - Caracterização da água de coco <i>in natura</i> e após padronização e tratamento térmico do segundo processamento.....	51

Tabela 9 - Efeitos estimados para um ajuste de segunda ordem, representando a relação entre o volume de carbonatação e as variáveis do processo.....	53
Tabela 10 – Cálculo da ANOVA para o volume de carbonatação.....	54
Tabela 11 - Efeitos estimados para um ajuste de segunda ordem, representando a relação entre o pH e as variáveis do processo.	55
Tabela 12 – Cálculo da ANOVA para o pH.	56
Tabela 13 - Efeitos estimados para um ajuste de segunda ordem, representando a relação entre a concentração de CO ₂ dissolvido e as variáveis do processo.	58
Tabela 14 – Cálculo da ANOVA para a concentração de CO ₂ dissolvido.	59
Tabela 15 - Efeitos estimados para um ajuste de segunda ordem, representando a relação entre a acidez titulável e as variáveis do processo.....	61
Tabela 16 – Cálculo da ANOVA para a acidez titulável.	62
Tabela 17 - Efeitos estimados para um ajuste de segunda ordem, representando a relação entre a concentração de ácido ascórbico e as variáveis do processo.....	64
Tabela 18 – Cálculo da ANOVA para a concentração de ácido ascórbico.....	64
Tabela 19 - Efeitos estimados para um ajuste de segunda ordem, representando a relação entre a cor b* e as variáveis do processo.....	69
Tabela 20 – Cálculo da ANOVA para a cor b*.....	70
Tabela 21 - Efeitos estimados para um ajuste de segunda ordem, representando a relação entre a turbidez e as variáveis do processo.	71
Tabela 22 – Cálculo da ANOVA para a turbidez.	72
Tabela 23 - Contagens total e de bolores e leveduras das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N, aos 30 e 61 dias de estocagem.....	73
Tabela 24 - Caracterização da água de coco <i>in natura</i> e após padronização e tratamento térmico do terceiro processamento.	77
Tabela 25 - Composição das amostras do terceiro processamento.....	78
Tabela 26 - Contagens total e de bolores e leveduras das amostras O e P estocadas à temperatura ambiente e a 5°C, aos 20 dias de estocagem.	84

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Reação de escurecimento enzimático a partir da polifenoloxidase (PFO).	16
Figura 2 - Mecanismo do escurecimento enzimático a partir da peroxidase (PDO).....	16
Figura 3 - Oxidação do ácido ascórbico em deidro-ascórbico.....	18
Figura 4 - Extrator de água de coco.	31
Figura 5 – Carbonatador.	32
Figura 6 - Fluxograma de processamento, carbonatação e envase da água de coco.....	33
Figura 7 - Volume de carbonatação das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.	42
Figura 8 - pH das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.	42
Figura 9 - Concentração de O ₂ dissolvido das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.....	43
Figura 10 - Concentração de CO ₂ dissolvido das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.....	44
Figura 11 - Sólidos solúveis das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.	44
Figura 12 - Acidez titulável das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.	45
Figura 13 - Concentração de ácido ascórbico das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.....	45
Figura 14 - Atividade enzimática da peroxidase das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.....	46
Figura 15 - Atividade enzimática da polifenoloxidase das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.....	47
Figura 16 - Luminosidade das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.....	47
Figura 17 - Cor a* das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.....	48
Figura 18 - Cor b* das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.....	48
Figura 19 - Turbidez das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.	49
Figura 20 - Volume de carbonatação das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante a estocagem ambiente.....	52

Figura 21 - Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) para o volume de carbonatação das amostras, em função da concentração de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio.	54
Figura 22 - pH das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante estocagem ambiente.	55
Figura 23 - Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) para o pH das amostras, em função da concentração de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio.....	57
Figura 24 - Concentração de CO ₂ dissolvido das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante a estocagem ambiente.	58
Figura 25 - Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) para a concentração de CO ₂ dissolvido nas amostras, em função da concentração de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio.....	59
Figura 26 - Sólidos solúveis das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante a estocagem ambiente.....	60
Figura 27 - Acidez titulável das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante a estocagem ambiente.....	61
Figura 28 - Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) para a acidez titulável das amostras, em função da concentração de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio.....	63
Figura 29 - Concentração de ácido ascórbico das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante estocagem ambiente.	63
Figura 30 - Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) para a concentração de ácido ascórbico nas amostras, em função da concentração de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio.....	65
Figura 31 - Atividade enzimática da peroxidase das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante a estocagem ambiente.	66
Figura 32 - Atividade enzimática da polifenoloxidase das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante a estocagem ambiente.	67
Figura 33 - Luminosidade das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante a estocagem ambiente.....	67

Figura 34 - Cor a* das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante a estocagem ambiente.....	68
Figura 35 - Cor b* das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante estocagem ambiente.	69
Figura 36 - Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) para a cor b* das amostras, em função da concentração de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio.....	70
Figura 37 - Turbidez das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante estocagem ambiente.....	71
Figura 38 - Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) para a turbidez das amostras, em função da concentração de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio.....	73
Figura 39 - Amostras D, E, F, G e H aos 62 dias de estocagem.....	75
Figura 40 - Amostras I, J, K, L, M e N aos 62 dias de estocagem.....	75
Figura 41 - Volume de carbonatação das amostras O e P durante estocagem ambiente e refrigerada.	78
Figura 42 - pH das amostras O e P durante estocagem ambiente e refrigerada.	79
Figura 43 - Sólidos solúveis das amostras O e P durante a estocagem ambiente e refrigerada.....	79
Figura 44 - Concentração de CO ₂ dissolvido das amostras O e P durante a estocagem ambiente e refrigerada.....	80
Figura 45 - Acidez titulável das amostras O e P durante estocagem ambiente e refrigerada.....	81
Figura 46 - Concentração de ácido ascórbico das amostras O e P durante estocagem ambiente e refrigerada.....	81
Figura 47 - Luminosidade das amostras O e P durante estocagem ambiente e refrigerada.....	82
Figura 48 - Cor a* das amostras O e P durante estocagem ambiente e refrigerada.....	82
Figura 49 - Cor b* das amostras O e P durante estocagem ambiente e refrigerada.....	83
Figura 50 - Turbidez das amostras O e P durante estocagem ambiente e refrigerada.....	83

Figura 51 - Amostras O e P armazenadas à temperatura ambiente aos 41 dias.....	85
Figura 52 - Amostras O e P armazenadas a 5°C aos 41 dias.....	85

RESUMO

A água de coco é um produto muito apreciado mundialmente, seja por suas características sensoriais agradáveis, como por sua composição rica em minerais e baixas calorias. Porém, esse é um produto muito perecível devido à presença de enzimas, como a peroxidase e polifenoloxidase, que causam alterações indesejáveis de cor e, também, devido sua rica composição, pH e atividade de água alta, é muito vulnerável à contaminação por micro-organismos. Por esses motivos, muitos são os estudos que visam à industrialização e aumento da vida de prateleira da água de coco. Nesse trabalho foi avaliado o efeito da carbonatação da água de coco, assim como a aplicação conjunta dos aditivos sorbato de potássio e metabissulfito de sódio, nas concentrações de 0 a 500 mg.L⁻¹ e de 0 a 100 mg.L⁻¹, respectivamente, com base em delineamento composto central rotacional. Foi observado que as concentrações de 375 e 70 mg.L⁻¹ de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio, respectivamente, ofereceram os melhores atributos de qualidade à água de coco, com relação a menor alteração de acidez e cor e o não desenvolvimento de micro-organismos. Foi possível verificar, ainda, a eficiência da carbonatação na preservação da água de coco, pois o CO₂ no produto contribui na retirada do oxigênio do interior da embalagem, muito prejudicial à água de coco, além de possuir ação conservante, diminuindo o pH do produto e agindo sobre células microbianas.

Palavras chave: água de coco; carbonatação; sorbato de potássio; metabissulfito de sódio.

ABSTRACT

Coconut water is a very popular worldwide, mainly because of its pleasant sensory characteristics nutritional value, and low calorie. However, this is a highly perishable product due to the presence of enzymes such as peroxidase and polyphenol oxidase, which cause undesirable changes in color and, also, because of its microbial instability. For these reasons, there are many studies toward industrialization in order to increase the shelf life of coconut water. This study evaluated the effect of carbonatation of coconut water as well as the joint application of potassium sorbate and sodium metabisulfite in concentrations between 0 to 500 mg.L⁻¹ and 0 to 100 mg.L⁻¹, respectively, based on central composite rotational design. It was observed that concentrations of 375 and 70 mg.L⁻¹ of potassium sorbate and sodium metabisulfite, respectively, offered the best quality attributes of coconut water, with respect to minor changes in acidity and color and for controlling microbial growth. The efficiency of carbonatation in the preservation of coconut water was also observed, because the effect of CO₂ in removing the oxygen inside the package and for preserving the product against growth of microorganisms.

Keywords: coconut water, carbonatation, potassium sorbate, sodium metabisulfite.

1 INTRODUÇÃO

A água de coco é um produto muito apreciado mundialmente. De sabor leve e rica em minerais e açúcares, é considerada um isotônico natural e muito utilizada como solução oral de hidratação nos tratamentos contra vômitos e diarreias. O cultivo do coco (*Cocos nucifera L.*) também representa importante fonte de renda, principalmente na região Nordeste do Brasil. Mas fatores como custo de transporte, armazenamento e perecibilidade do coco dificultam o seu consumo fora das regiões produtoras. Frente a estes aspectos, a industrialização da água de coco torna-se cada vez mais conveniente e necessária.

Porém, a mesma composição que torna a água de coco um produto tão atrativo, também dificulta o seu processamento. Sua composição rica em nutrientes e pH de aproximadamente 5,5, favorecem o desenvolvimento de micro-organismos que deterioram o produto em poucos dias. Além disso, a água de coco por possuir elevada concentração das enzimas peroxidase e a polifenoloxidase pode sofrer alterações irreversíveis na cor e sabor, após sua extração.

No Brasil, a maior parte do consumo de água de coco é feita diretamente do fruto *in natura*, porém a aplicação de tecnologias de processamento e conservação viabilizam o comércio do produto, aumentando seu aproveitamento e gerando empregos em um novo nicho industrial. Estima-se um consumo anual da ordem de 70 milhões de litros de água de coco envasada pelas indústrias brasileiras, mas este é um mercado em expansão principalmente devido à sua conveniência, apresentando maior praticidade no manuseio e estocagem e uma vida de prateleira prolongada.

A água de coco envasada pode ser encontrada na forma refrigerada, com vida de prateleira de aproximadamente 3 dias, ou congelada, com uma duração maior, podendo atingir até 6 meses sem alterações. É possível utilizar sistemas de embalagens mais simples como copos e garrafas de polietileno de baixa densidade (PEBD) ou polietileno tereftalato (PET), mas o custo da cadeia do frio eleva o preço final do produto.

Para a comercialização à temperatura ambiente, faz-se necessário a aplicação de sistemas mais seguros como as embalagens cartonadas, tipo longa vida, que garantem a proteção contra a luz e penetração de oxigênio, altamente prejudicial ao produto, e tratamento térmico mais severo, como a esterilização. Todo esse processo, além de elevar o preço final, também provoca alterações irreversíveis no sabor.

Pesquisas recentes sobre a carbonatação de água de coco, conforme Faria (2009) e Silva (2009) evidenciaram a necessidade da adição de conservantes microbiológicos para se obter maior vida de prateleira comercial do produto em garrafa plástica.

Por esses motivos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação do gás carbônico como um adjunto à conservação da água de coco pasteurizada, assim como a adição dos conservadores químicos sorbato de potássio e metabissulfito de sódio, com a finalidade de obter um produto refrescante, diferenciado e podendo ser armazenado à temperatura ambiente em embalagens leves e convenientes de polietileno tereftalato (PET).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Água de coco

O fruto do coqueiro é popularmente conhecido como coco da Bahia ou simplesmente coco, possui forma ovóide, globosa, de coloração esverdeada a amarela, casca lisa e amadurecimento demorado. A água de coco é a parte líquida extraída do fruto, definida como o líquido do endosperma, correspondendo a 25% do peso total do coco, cuja formação começa um mês e meio após a polinização da flor feminina e alcança seu volume máximo em torno de seis meses (SOUZA et al., 2007; TOCCHINI, 1998; WOSIACKI; DEMIATE; MELO, 1996).

A água de coco é levemente ácida, apresentando pH de aproximadamente 5,5, pouco turva a transparente, não viscosa e com sabor ligeiramente adocicado, sendo constituída principalmente por minerais e açúcares e, em menores proporções, por substâncias nitrogenadas (aminoácidos) e gorduras, além de vitaminas e auxínicos (substâncias promotoras do crescimento), e devido à sua composição rica em sais, é considerada um isotônico natural (MEDINA et al., 1980; MACIEL; OLIVEIRA; SILVA, 1992; CAMPOS et al., 1996; SREBERNICH, 1998).

2.2 Mercado do coco e da água de coco no Brasil

A cocoicultura é considerada a segunda cultura frutífera de importância econômica na região Nordeste brasileira, sendo os tabuleiros costeiros os maiores produtores. Normalmente, a água de coco é comercializada dentro do próprio fruto, prática que envolve problemas relacionados ao transporte, armazenamento e perecibilidade do produto. A fim de permitir o seu consumo em locais fora das regiões produtoras, é fundamental a sua industrialização, visando diminuir o volume e o peso transportados e, conseqüentemente, reduzir os custos de transporte, bem como aumentar a sua vida de prateleira (ROSA; ABREU, 2000).

Porém, em função do aumento da demanda e dos bons preços conferidos à água de coco, houve uma rápida expansão das áreas plantadas com coqueiros anões, ocupando, inclusive, regiões não tradicionais de cultivo, como ocorre em estados da região Sudeste (Espírito Santo e o Rio de Janeiro) e do Centro Oeste, com áreas do semi-árido e dos tabuleiros costeiros do Nordeste. Esta rápida expansão das áreas plantadas acarretou excedentes de produção e queda de preços. Dessa forma, os maiores mercados consumidores, concentrados no Sudeste do Brasil, passaram a ser supridos pela própria região, com as vantagens de colher os frutos no mesmo dia e de reduzir, significativamente, os custos com transporte. Tal situação tem inviabilizado, de certa forma, a produção do Nordeste, apesar da região apresentar condições de clima e solo mais favoráveis, gerando maior produtividade. Como consequência, produtores de coqueiro anão estão direcionando a sua produção para o mercado de coco seco, que compensa a menor produção de alúmen/fruto produzindo um maior número de frutos por planta (ARAGÃO, 2007; FONTES; WANDERLEY, 2006).

Estima-se um consumo nacional anual da ordem de 70 milhões de litros de água de coco envasada pelas indústrias. Esse mercado teve crescimento anual da ordem de 20% no período 1997 a 2002; entre 2002 e primeiro semestre de 2004 houve queda acentuada desse incremento, admitindo-se que, com a retomada do crescimento econômico, o mercado volte a crescer significativamente (FONTES; WANDERLEY, 2006).

Segundo Aragão (2007), a água de coco concorre no mercado de refrigerantes e bebidas isotônicas, representando aproximadamente 1,4% desse consumo, estimado em mais de 10 bilhões de litros/ano. A pequena participação neste mercado dá a dimensão das possibilidades de crescimento do consumo da água de coco.

2.3 Variedades de coco para extração da água

2.3.1 Variedade gigante

A variedade gigante é caracterizada por produzir frutos com aptidão para copra, que é o albúmen sólido e seco, também conhecido por polpa. O coqueiro gigante é bastante explorado, principalmente pelos pequenos produtores. É uma variedade rústica, de crescimento rápido e fase vegetativa longa, iniciando o florescimento entre 5 e 7 anos quando em condições ecológicas ideais. Essa variedade atinge 20 a 30m de altura, podendo produzir até 80 frutos/planta/ano, de tamanho variando de médio a grande e com vida econômica de 60 a 70 anos. No Brasil é muito empregado *in natura* para uso culinário (na produção de doces, bolos etc.), bem como na agroindústria de alimentos para leite de coco, farinha de coco, entre outros (MORORÓ, 1998; ARAGÃO, 2007).

2.3.2 Variedade anã

O coqueiro anão representa a variedade mais utilizada comercialmente no Brasil, para produção de água de coco, devido sua qualidade sensorial superior às demais cultivares, mas também é empregada na agroindústria de alimentos e/ou do fruto seco *in natura*, devido sua produtividade estimada de polpa acima de 8 t/ha, quando o plantio é devidamente técnico. Neste contexto, essa variedade pode se constituir em alternativa promissora para os produtores de coco seco, pois além de se tornar uma variedade de maior utilidade comercial, reduzirá a deficiência de produção de polpa, atualmente observada nos plantios com as cultivares de coqueiro híbrido e gigante. Além disso, em relação à qualidade dessa polpa, o teor de gordura encontra-se em torno de 30%, sendo menos da metade dos teores encontrados na variedade gigante (65 a 70%) e na híbrida (62 a 65%), abrindo conseqüentemente, uma perspectiva muito interessante no segmento de mercado de alimentos “light” à base de coco (ARAGÃO, 2007).

Embora os coqueiros anões tenham boa produtividade, a polpa tem tendência a ser mais macia e flexível, de qualidade inferior a dos coqueiros gigantes, sendo empregados principalmente para a extração da água. A variedade anã é composta das cultivares amarela, verde e vermelha, sendo a anã verde a mais demandada para consumo de água, seja *in natura* ou industrializada (ROSA; ABREU, 2000).

Quando se utiliza sistemas de produção irrigados e adequado manejo fitossanitário e nutricional das plantas, o coqueiro anão inicia sua produção a partir do terceiro ano, podendo alcançar uma produção média de 200 frutos/planta/ano, a partir do sétimo ano, quando se estabiliza a fase produtiva (ARAGÃO, 2007; FONTES; WANDERLEY, 2006).

2.3.3 Variedade híbrida

O coqueiro híbrido, obtido do cruzamento entre as variedades anã e gigante, é uma cultivar de ampla utilidade comercial, podendo ser empregada para produções de água de coco e de fibras e, principalmente, para produção de polpa ou albúmen sólido. A grande dificuldade em curto e médio prazo é a baixa disponibilidade de sementes híbridas no mercado, para implantação de extensas áreas com essa cultivar (ARAGÃO, 2007; ROSA; ABREU, 2000).

Segundo Aragão (2007), a variedade híbrida pode apresentar as seguintes vantagens em relação às variedades anã e gigante:

- Maior estabilidade de produção quando submetidos a diferentes condições ambientais;
- Ampla utilidade do fruto – uso *in natura* (culinária e água de coco) e emprego agroindustrial (alimentos, água de coco, saboaria, detergentes, fibras para estofados e ração animal, entre outros);
- Fruto de tamanho médio de acordo com a exigência do mercado;
- Maior produtividade de polpa – pode produzir em média entre 8,5 a 9,5 t/ha de polpa, enquanto o gigante entre 3,5 a 5,0 t/ha e o anão em média 8 t/ha;
- Maior produtividade de água que o gigante – produz cerca de 10.000 a

12.000 L/ha, enquanto o gigante 5.000 a 7.000 L/ha e produtividade igual ao dos anões;

- Maior estabilidade de preço no ano, devido a sua ampla utilidade.

2.4 Características físico-químicas da água de coco

A água de coco sofre mudanças na sua composição durante o desenvolvimento do fruto. Além do grau de maturação, outros fatores como a variedade do fruto, a região e a época do ano também influenciam nas características físico-químicas e sensoriais do produto. Apesar disso, a água de coco apresenta um conteúdo rico em sais minerais e açúcares, que a torna uma bebida isotônica natural e é muito usada como solução oral de hidratação nos tratamentos de vômitos e diarreias. Sua concentração dos aminoácidos alanina, arginina, cisteína e serina é mais elevada do que no leite de vaca, razão pela qual a água de coco pode ser muito bem utilizada na alimentação infantil (MORORÓ, 1998; ROSA; ABREU, 2000).

Segundo Schmidt et al. (2004), o pH da água de coco não é dependente do fator idade dos frutos, e varia de 4,9 a 5,5 para as variedades gigante e híbrida. Porém, ácidos orgânicos aumentam seus teores na fase aquosa com a idade do fruto. O ácido málico é o principal representante dos ácidos orgânicos (95%) nas variedades gigante e híbrida, seguido pelo ácido tartárico, com cerca de 1,5%.

Em relação aos açúcares dissolvidos, a água de coco contém sacarose e glicose que variam com o grau de maturação do fruto. É observada uma queda de 2% nos teores de açúcares da água de coco, no intervalo de sete a doze meses. Isso acontece porque, quando os frutos são verdes, as unidades de sacarose não estão combinadas, havendo quantidade suficiente de frutose livre (a frutose tem teor de doçura maior que o da sacarose). Com o progresso da maturação do fruto ocorre a síntese da sacarose a partir da glicose e frutose, favorecendo a queda no teor de açúcar redutor (MAGDA, 1992; ARAGÃO, 2007).

Na análise da água de coco em oito estágios progressivos de maturação (a partir do quinto mês), observa-se uma acentuada redução no volume de água, no

conteúdo de açúcares, sólidos totais, cinzas e minerais, enquanto os teores de gordura e proteína aumentam significativamente, como pode ser observado nas Tabelas 1 e 2.

De acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2002), o produto comercial da água de coco deve possuir uma acidez fixa em ácido cítrico mínima de 0,03 e máxima de 0,18 g/100mL, pH mínimo de 4,3 e sólidos solúveis de 7,0°Brix a 20°C.

No interior do fruto, a água de coco é estéril, mas sua composição rica em nutrientes favorece o desenvolvimento de micro-organismos gerando problemas logo após a abertura do fruto. Outro fator a se considerar é relacionado à elevada concentração de enzimas naturalmente presentes. Estas enzimas possuem finalidades específicas e vitais para o fruto “in vivo”, porém, ao entrar em contato com o ar atmosférico, reações indesejadas são desencadeadas, dando origem a uma coloração rosada (ROSA; ABREU, 2000).

Tabela 1 - Faixa de variação do volume de água, pH, acidez, sólidos solúveis totais (°Brix), açúcares redutores e não redutores da água de coco anão verde de seis cultivares selecionados do 5º ao 12º mês de maturação.

Mês	Volume da água/fruto (mL)	PH	Acidez (mL de sol. normal/100mL)	SST (°Brix)	Açúcares redutores (g de glicose/100mL)	Açúcares não redutores (g de sacarose/100mL)
5º	125 a 247	4,7 a 4,8	1,0 a 1,5	4,5 a 5,7	3,1 a 4,5	N.E. a 0,5
6º	153 a 290	4,7 a 4,8	1,0 a 1,5	3,4 a 8,9	2,2 a 3,6	N.E.
7º	212 a 310	4,7 a 4,9	0,8 a 1,2	5,2 a 8,9	1,9 a 5,5	N.E. a 5,9
8º	140 a 246	4,7 a 5,7	0,6 a 1,5	5,2 a 9,2	2,2 a 6,4	N.E. a 2,5
9º	130 a 378	5,0 a 6,7	0,4 a 0,9	4,0 a 8,5	1,7 a 6,3	N.E. a 4,6
10º	95 a 206	5,0 a 6,7	0,4 a 0,6	3,0 a 4,4	0,5 a 1,5	1,5 a 3,8
11º	102 a 195	4,7 a 6,1	0,4 a 0,5	3,8 a 5,3	0,3 a 0,6	1,3 a 3,9
12º	54 a 152	5,5 a 6,1	0,3 a 0,5	3,1 a 7,1	0,3 a 0,7	1,3 a 4,1

Fonte: TAVARES et al., 1998.

N.E. = não encontrado

Tabela 2 - Faixa de variação do teor de minerais e vitamina C da água de coco verde de seis cultivares selecionados do 5º ao 12º mês de maturação.

Mês	Fe (mg/100mL)	Ca (mg/100mL)	K (mg/100mL)	Mg (mg/100mL)	Na (mg/100mL)	P (mg/100mL)	Vitamina C (mg/100mL)
5º	0,03 a 0,04	13 a 25	148 a 231	6,1 a 14	5,1 a 6,9	1,2 a 4,8	1,7 a 3,9
6º	0,03 a 0,05	9,9 a 16	102 a 192	8,3 a 14	8,7 a 12	4,6 a 7,9	19,7 a 94,3
7º	0,06 a 0,09	10 a 24	143 a 191	3,8 a 12	4,7 a 9	2,5 a 5,2	N.E.
8º	0,04 a 0,07	12 a 25	189 a 248	3,7 a 11	5,8 a 17	4,1 a 7,5	1,8 a 4,8
9º	0,05 a 0,09	8,5 a 21	178 a 296	5,7 a 23	9,2 a 20	2 a 22	N.E. a 3,4
10º	0,05 a 0,07	10 a 19	150 a 190	3,1 a 9,6	15 a 31	5,2 a 8,5	N.E. a 1,7
11º	0,03 a 0,05	13 a 19	144 a 216	4,3 a 9,1	18 a 29	4,5 a 8,3	N.E. a 1,7
12º	0,03 a 0,08	10 a 21	127 a 269	3 a 15	15 a 55	5,1 a 9,2	N.E.

Fonte: TAVARES et al., 1998.

N.E. = não encontrado

2.5 Produtos comerciais de água de coco

A aplicação de tecnologias de processamento e conservação da água de coco viabiliza o comércio do produto, aumenta o aproveitamento da fruta, diminui a participação percentual de intermediários que oneram o custo final do produto, além da geração de empregos em um novo nicho industrial. A água de coco verde envasada insere-se na linha de produtos de conveniência, apresentando praticidade no manuseio e estocagem e uma vida de prateleira prolongada (ROSA; ABREU, 2000).

2.5.1 Água de coco *in natura*

O consumo de coco verde *in natura* é bastante representativo e seu mercado é estabelecido, principalmente, nas regiões litorâneas e nos locais próximos à sua produção. Após a colheita, o fruto deve ser estocado em local fresco e seco, podendo ser consumido dentro de um período máximo de 10 dias, após o qual se iniciam os processos de deterioração que comprometem

principalmente a acidez do produto. Porém, o seu tempo útil pode ser estendido através do uso de refrigeração e atmosfera controlada (ROSA; ABREU, 2000).

A água de coco natural normalmente é resfriada antes do consumo, simplesmente por uma questão sensorial. O resfriamento pode ser feito no fruto inteiro em câmaras refrigeradas ou pela imersão do fruto em água gelada. Outra forma é a extração da água à temperatura ambiente e seu imediato resfriamento num sistema de serpentinas (SCHMIDT et al., 2004).

2.5.2 Água de coco envasada

A água de coco envasada deve ser obtida a partir de processos tecnológicos adequados, preservando tanto quanto possível suas características naturais. Deve-se otimizar o tempo de processo e minimizar a exposição ao ar. Neste tipo de processo, pode-se adotar a padronização do produto final, que tem por objetivo uniformizar o produto, através da correção de parâmetros como o teor de sólidos solúveis (°Brix) e acidez, pode-se também lançar mão de aditivos capazes de prolongar a vida de prateleira da água de coco (MORORÓ, 1998; ROSA; ABREU, 2000).

2.5.2.1 Água de coco envasada e refrigerada

Para produtos sem tratamentos auxiliares, tais como formulação e pasteurização, a vida de prateleira da água de coco é de cerca de 3 dias. Após este período, tanto a carga microbiana pode aumentar quanto reações bioquímicas podem desencadear processos de alteração de cor (ROSA; ABREU, 2000).

A pasteurização representa uma boa alternativa para elevar a vida de prateleira do produto. Deve ser conduzida de forma a reduzir a contagem microbiana, e a temperatura de processo deve-se situar entre 75 e 90°C e o binômio, temperatura *versus* tempo de pasteurização, deve ser otimizado

considerando também os atributos sensoriais e o tipo de equipamento disponível. O produto pasteurizado deve ser rapidamente envasado e resfriado até 5°C. A água de coco pasteurizada e refrigerada a 5°C possui uma vida de prateleira de até 30 dias, porém, a aplicação de tratamentos auxiliares, como o uso de conservantes químicos, pode estender a vida de prateleira do produto para até seis meses (ROSA; ABREU, 2000; SCHMIDT et al., 2004).

A água de coco refrigerada pode ser comercializada em garrafas de polietileno tereftalato (PET), podendo ainda ser encontrada em copos com tampas termos-soldáveis ou garrafas de polietileno de baixa densidade (PEBD). Tem-se verificado também uma tendência ao uso de embalagens do tipo “*bag in box*”. A etapa de envase deve ser realizada no menor tempo possível, e a temperatura de armazenagem deve ser mantida entre 5 e 8°C (ROSA; ABREU, 2000).

2.5.2.2 Água de coco envasada e congelada

Esta parcela de produto é representada por aquele que não sofreu aquecimento como forma auxiliar de tratamento. Porém, tendo em vista que a água de coco é um meio extremamente suscetível ao desenvolvimento microbiano, é recomendada a pasteurização para reduzir os níveis de contaminação. O produto congelado também pode ser comercializado em embalagens plásticas, de acordo com a compatibilidade do material. Em câmaras frigoríficas, nas quais a temperatura varia de -18 a -20°C, a vida de prateleira do produto pode chegar de três a seis meses. Uma vez descongelado, o produto deve ser imediatamente consumido, ou ser mantido sob refrigeração por até três dias (ROSA; ABREU, 2000; SCHMIDT et al., 2004).

2.5.2.3 Água de coco envasada e mantida à temperatura ambiente

Após a abertura do fruto, a esterilização é a única forma de viabilizar a estocagem da água de coco à temperatura ambiente, uma vez que o produto

apresenta pH maior que 4,5, atividade de água próxima a 1,0 e composição rica em nutrientes e minerais, que possibilitam o desenvolvimento de esporos bacterianos anaeróbios, como o *Clostridium botulinum* (ROSA; ABREU, 2000; SCHMIDT et al., 2004).

Na esterilização, a água de coco é aquecida e imediatamente resfriada em trocadores de calor. O aquecimento do produto causa danos sensoriais irreversíveis, porém, se bem conduzido, garante a segurança microbiológica e a estabilidade do produto ao longo de sua vida de prateleira (SCHMIDT et al., 2004).

Uma forma de armazenar o produto processado são as embalagens cartonadas, do tipo longa vida, que conferem além de proteção ao produto, podendo atingir um ano de vida útil, também facilidade na estocagem e comercialização e praticidade no consumo. A embalagem do tipo “*bag in box*” estéril é outra forma de acondicionamento com estocagem à temperatura ambiente e representa uma boa opção para a distribuição a granel em pontos de vendas de largo consumo (ROSA; ABREU, 2000; SCHMIDT et al., 2004).

2.5.2.4 Outros métodos de conservação

Além dos métodos tradicionalmente empregados para a conservação da água de coco citados anteriormente, outros mecanismos também vem sendo estudados como as aplicações de ultra filtração e micro-ondas.

Matsui et al. (2007), estudaram a aplicação de energia micro-ondas para a inativação das enzimas peroxidase e polifenoloxidase, obtendo resultados positivos, em água de coco verde.

Sousa (2006) estudou a inativação e esterilização de água de coco utilizando a ultra filtração, e concluiu que uma membrana de 10 kDa de massa molecular de corte foi eficiente na retenção das enzimas e dos micro-organismos e que seguido de um sistema de envase asséptico foi possível obter um produto comercialmente estéril.

Dosualdo (2007) aplicou o processo de homogeneização a ultra alta pressão em água de coco e concluiu que o tratamento apresentou, para faixas de

pH de 4,5 a 6,0 e pressão entre 100 e 300 MPa, alta eficiência na eliminação de bactérias (*Lactobacillus fructivorans*) e leveduras (*Saccaromyces cerevisiae*), porém pouca ou nenhuma eficiência na inativação das enzimas presentes no produto (peroxidase e polifenoloxidase).

2.6 Aspectos importantes na industrialização da água de coco

Alguns aspectos são muito importantes na industrialização da água de coco, como a caracterização dos micro-organismos mais propícios a se desenvolverem no produto, forma de extração da água e boas práticas de manipulação.

2.6.1 Microbiologia da água de coco

O coco, em contato com o solo, folhagens e exposto ao vento, carrega uma carga microbiana natural, que pode incluir vários patógenos, como *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* enteropatogênica, esporos de *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, bolores toxigênicos, protozoários, dentre outros (SCHMIDT et al., 2004).

Smith et al. (1976) citado por Leber e Faria (2004), identificaram o desenvolvimento da levedura *Saccharomyces fragilis* em água de coco, fazendo análises de proteína (aminoácidos), componentes macromoleculares e de material celular, concluindo que o excesso de nitrogênio induziu o aumento do conteúdo celular de leveduras.

Leber e Faria (2004) também avaliaram a estabilidade microbiológica de água de coco comercializada em garrafas plásticas de polietileno tereftalato (PET) nas formas congelada e refrigerada durante a estocagem e comercialização. No produto refrigerado, as alterações nas contagens iniciais, em consequência da multiplicação microbiológica, foram suficientes para determinar o fim da vida de prateleira de comercialização. Já para a água congelada, não foram observadas alterações na contagem inicial ao longo de todo o período de estocagem.

A etapa de lavagem dos cocos, devido à ação de um sanificante (normalmente compostos de cloro), pode reduzir a contaminação inicial de bactérias patogênicas não esporuladas em níveis aceitáveis (SCHMIDT et al, 2004).

2.6.2 Boas práticas de fabricação

As condições de higiene devem ser uma preocupação constante, para minimizar a contaminação por micro-organismos que possam deteriorar o produto. Deve-se, também, ficar atento à higiene pessoal e à saúde dos funcionários, bem como a limpeza e manutenção dos equipamentos e do ambiente de trabalho. A sala de processamento e todos os equipamentos e utensílios devem ser lavados e sanitizados diariamente, antes e após a sua utilização. A adoção de Boas Práticas de Fabricação (BPF) representa uma das importantes ferramentas para o alcance de níveis adequados de segurança alimentar e, com isso, contribui significativamente para garantir a qualidade do produto final (ROSA; ABREU, 2000).

Schmidt et al. (2004), estudaram a aplicação do plano de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) para a água de coco natural, congelada, e para aquelas obtidas pelos processos de descontaminação por luz ultravioleta (UV), esterilização por *Ultra High Temperature* (UHT) e pasteurização. Foram estabelecidos pontos críticos de controle (PCC) para as etapas de filtração em membranas no sistema de descontaminação por UV, nas etapas de pasteurização, esterilização (produto e embalagem) e armazenamento refrigerado dos produtos que dependem da cadeia do frio.

Porém, os mesmos autores alertam para as dificuldades de aplicação do plano APPCC, pois vários aspectos sobre os processos estudados ainda são desconhecidos ou pouco estudados, como: ausência de dados referentes à possibilidade de penetração de patógenos no interior do fruto; a contaminação microbiológica preponderante e o efeito de cada etapa na multiplicação desses micro-organismos não são conhecidos; a cinética de inativação física ou química das principais enzimas da água de coco ainda não foi completamente estudada.

2.6.3 Extração da água de coco

Durante o processamento, a fase de abertura do fruto é considerada um ponto crítico, uma vez que um sistema de abertura lento compromete a velocidade do processo, permitindo que reações indesejáveis, como o escurecimento, ocorram no produto. Recomenda-se, portanto, minimizar o tempo de exposição da água de coco com o ar. Além disso, há evidências de que o contato prolongado do líquido com a parte fibrosa da casca, em presença de oxigênio, também pode promover reações indesejáveis (ROSA; ABREU, 2000).

Mororó (1998) descreve um sistema industrial pneumático que consiste em dispositivos pneumáticos, montados em sincronia com a esteira de transporte, os quais fixam e conduzem um dado número de frutos até o local onde se encontram furadores feitos em aço inoxidável, fixos, instalados de baixo para cima. Os frutos assim agarrados são pressionados contra os furadores, que os perfuram, liberam a água, e a conduzem até a tubulação de transporte, para o tanque de formulação.

Abreu (2005), Souza (2006) e Silva (2009) utilizaram um processo de extração de água de coco verde, desenvolvido por Faria 2003, o qual utiliza um dispositivo pneumático para perfuração do coco e retirada do líquido por insuflamento de ar filtrado ou nitrogênio.

2.7 Escurecimento enzimático da água de coco

A água de coco é altamente propícia à alteração de cor devido à sua composição rica em enzimas do grupo das oxiredutases como a peroxidase e a polifenoloxidase.

A polifenoloxidase está indiretamente ligada ao escurecimento enzimático de frutas e vegetais. Essa enzima catalisa dois tipos de reações oxidativas: a hidroxilação dos monofenóis em o-difenóis, e a oxidação desses últimos, que são compostos incolores, em o-quinonas de coloração escura (DUARTE; COELHO; LEITE, 2002), como pode ser observado na reação da Figura 1.

A determinação precisa da polifenoloxidase representa um desafio devido à quinonas formadas durante a reação enzimática, substratos e à formação de moléculas poliméricas complexas que interferem na análise.

A peroxidase catalisa um grande número de reações oxidativas em plantas usando peróxido de hidrogênio como substrato ou, em alguns casos, oxigênio como um aceptor de hidrogênio, como apresentado na reação da Figura 2. É considerada a enzima vegetal mais estável ao calor e sua inativação tem sido convencionalmente usada como indicador de adequação de branqueamento em processamentos vegetais (FREITAS et al., 2008).

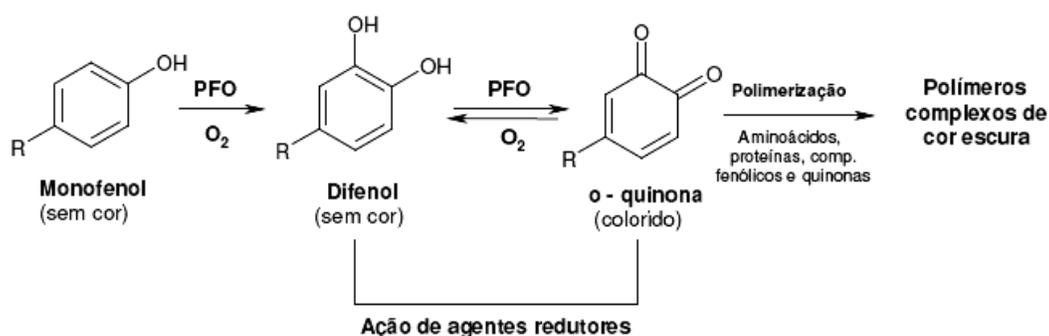


Figura 1 – Reação de escurecimento enzimático a partir da polifenoloxidase (PFO).

Adaptado de WALKER, 1995; SAPERS, 1993 citado por ABREU, 2005.

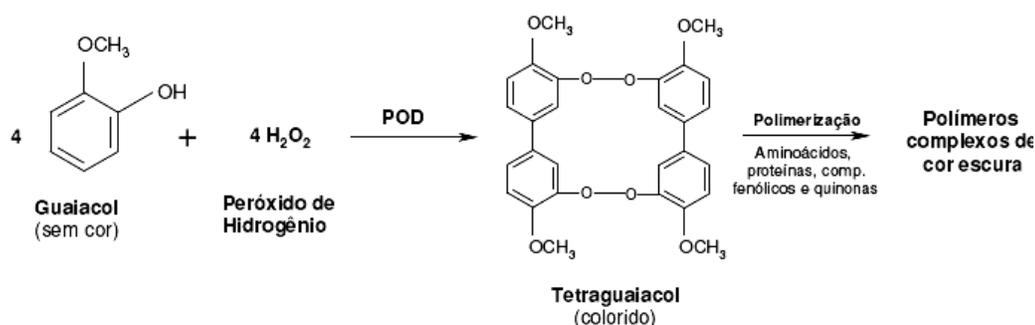


Figura 2 - Mecanismo do escurecimento enzimático a partir da peroxidase (PDO).

Adaptado de FATIBELLO-FILHO; VIEIRA, 2002 citado por ABREU, 2005.

Como na maioria dos casos, o escurecimento enzimático é indesejável, portanto, métodos químicos e físicos foram desenvolvidos visando a sua inibição, tendo por base a eliminação ou complexação de um ou mais componentes

essenciais à reação, ou seja, oxigênio, enzima, cobre e substrato (GUERRERO-BELTRÁN; SWANSON; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005).

Em estudos realizados por Campos et al. (1996), as duas enzimas são inativadas através de um tratamento térmico à temperatura de 90°C com tempos de 550 e 310 segundos, para a polifenoloxidase e peroxidase, respectivamente. Porém, o tratamento a 90°C acima de 100 segundos afeta significativamente o sabor da água de coco, gerando prejuízos à qualidade sensorial do produto.

Diferentes compostos podem ser utilizados para controlar o escurecimento enzimático os quais são classificados com base no mecanismo de inibição, como: agentes redutores, quelantes, acidulantes, inibidores enzimáticos e agentes complexantes.

Dentre os agentes mais largamente utilizados para o controle do escurecimento, enzimático ou não, estão os agentes sulfitantes, que também são utilizados no controle do desenvolvimento de micro-organismos, agindo também como um branqueador, antioxidante ou redutor, além de outras funções. Porém, devido aos seus efeitos adversos à saúde, a Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization – WHO*) recomenda um limite de uso do SO₂ no processamento de produtos alimentícios. As indicações da WHO recomendam uma dose diária máxima de 0,7 mg.kg⁻¹ de massa corpórea (QUEIROZ et al., 2008).

O ácido ascórbico também é frequentemente utilizado na prevenção do escurecimento enzimático e tem se mostrado mais efetivo que seu isômero, o ácido iso-ascórbico. O ácido ascórbico atua como um antioxidante, porque reduz a quinona produzida pela polifenoloxidase e também contribui para a diminuição do pH. O ácido ascórbico reverte o escurecimento por redução da quinona em fenol. É também um potente antioxidante, devido a sua capacidade de transformar radicais livres de oxigênio em formas inertes, que é acompanhada pela conversão do ácido ascórbico em deidro-ascórbico, sua forma oxidada, como apresentado na Figura 3. Porém, o ácido ascórbico também pode participar no processo de escurecimento não enzimático, por formar derivados do furfural, na presença de

pH baixo e aquecimento, produzindo pigmentos escuros (QUEIROZ et al., 2008; TORALLES et al., 2008).

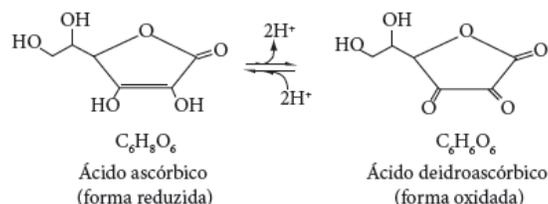


Figura 3 - Oxidação do ácido ascórbico em deidro-ascórbico.

Fonte: TORALLES et al., 2008.

Em estudo realizado por Abreu e Faria (2007), aplicou-se ácido ascórbico nas concentrações de 0, 100 e 200 mg.L⁻¹, em conjunto com tratamento térmico de 138 a 144°C por 10 segundos, e foi verificado que o tratamento térmico a 139°C por 10 segundos e a concentração de 200 mg.L⁻¹ de ácido ascórbico proporcionaram a melhor estabilidade físico-química da água de coco esterilizada e acondicionada assepticamente.

2.8 Resíduos provenientes da extração da água de coco

O coco verde, a partir dos cinco meses, começa a apresentar uma massa fina, translúcida e leitosa, de consistência pastosa, resultante do acúmulo dos nutrientes sólidos existentes na água. Essa massa é denominada albúmen e constitui a polpa. De modo geral, o conteúdo de polpa proveniente do coco verde é tão baixo que seu aproveitamento não é economicamente recomendável (ROSA; ABREU, 2000; MORORÓ, 1998).

Já a casca do coco verde, que representa cerca de 85% do peso do fruto, normalmente é descartada como lixo. Porém iniciativas ambientais sugerem a utilização do resíduo da casca verde na agricultura intensiva, principalmente no cultivo de plantas ornamentais e hortaliças; na indústria de papel; na engenharia de alimentos para complementação alimentar humana e animal e na produção de

enzimas; na indústria de construção civil e em matrizes poliméricas, assim o aproveitamento da casca do coco verde, gerado tanto como resíduo industrial quanto como lixo urbano, significaria mais uma alternativa de lucro para os sítios de produção (ROSA; ABREU, 2000; SENHORAS, 2004). Também há estudos da aplicação da fibra de coco verde como sistema de acolchoamento para o transporte de frutas (FARIA, 2009).

2.9 Legislação para água de coco

A água de coco é definida como a bebida obtida da parte líquida do fruto do coqueiro (*Cocos nucifera* L.), por meio de processo tecnológico adequado, não diluído e não fermentado, podendo ser classificada como *in natura*, esterilizada, congelada, resfriada, concentrada e desidratada (BRASIL, 2002).

O produto pode ser adicionado de açúcares exclusivamente para correção e padronização do grau Brix, e em quantidade não superior a 1g/100 mL. Também podem ser adicionadas vitaminas, conforme legislação específica para nutrientes essenciais. Os aditivos, tais como conservantes, antioxidantes e acidulantes químicos, podem ser acrescentados, conforme aprovados para suco de frutas, até a publicação da lista específica de aditivos para água de coco (BRASIL, 2002).

2.10 Carbonatação

A carbonatação é o processo de introdução do gás dióxido do carbono (CO₂) em água ou em outra bebida. Quando a bebida carbonatada é envasada em uma garrafa, o CO₂ é liberado na forma de pequenas bolhas que sobem rapidamente para a superfície, onde estouram e liberam o gás. Isto também ocorre quando se toma a bebida, causando um formigamento (cócegas), típicos de todas as bebidas carbonatadas (SHACHMAN, 2005).

Bebidas carbonatadas são feitas, usando-se altas pressões parciais de CO₂, para produzir altas concentrações de dióxido de carbono na água. Quando a

pressão parcial de CO₂ é reduzida pela remoção da tampa, ou do selo da garrafa, o equilíbrio desloca-se na direção do CO₂ e o líquido efervesce (ATKINS; JONES, 2001).

A unidade que mede o teor de CO₂ dissolvido na bebida é chamada Volume de Carbonatação, definido como a quantidade de CO₂ que um dado volume de água absorverá, à pressão atmosférica de 760 mm Hg (1 atm) e a 15,5°C de temperatura. Em outras palavras, 1 litro de água na temperatura de 15,5°C e pressão de 1 atm pode absorver 1 litro de CO₂ ou 1,86 g de CO₂ dissolvido (SHACHMAN, 2005; TOCCHINI; NISIDA, 1995).

2.10.1 Dióxido de carbono

O dióxido de carbono é um gás natural, presente no ar em níveis muito baixos (cerca de 0,03%). É uma substância vital para o reino vegetal no processo de fotossíntese, no qual é convertido em carboidrato, usando água e luz solar. O CO₂ pode existir em três formas: gás, sólido (gelo seco), e líquido (sob certa pressão). De acordo com Shachman (2005), o gás possui propriedades físicas e químicas que o torna ideal para ser aplicado em bebidas carbonatadas:

- Não tóxico, incolor e inodoro: não interfere no sabor da bebida;
- Não inflamável e não apresenta risco de fogo quando manuseado;
- É solúvel em água e dissolve facilmente em bebidas;
- Sua solubilidade pode ser controlada através da regulagem da relação de pressão e temperatura;
- Na água ele forma um ácido fraco, o ácido carbônico, que dá à bebida sua típica nota ácida no sabor;
- O ácido carbônico pode retardar o crescimento de muitos microorganismos;
- Ácido carbônico facilmente libera o gás CO₂ criando a efervescência, quando a bebida é consumida.

Além do fator sensorial, o CO₂ também é capaz de exercer efeito inibitório contra bactérias. De modo geral, o mecanismo de inativação de micro-organismos pode ser sintetizado como: (1) solubilização do CO₂ pressurizado na fase líquida; (2) modificação da membrana celular; (3) diminuição do pH intracelular; (4) inativação de enzimas e inibição do metabolismo celular devido ao baixo pH; (5) efeito de inibição direto das moléculas de CO₂ e HCO₃⁻ no metabolismo; (6) desordem no balanço eletrolítico intracelular; (7) remoção de compostos vitais das células e membranas (GARCIA-GONZALEZ et al., 2007).

2.10.2 Carbonatação de bebidas

A carbonatação de bebidas é feita na própria máquina de enchimento, através da regulagem da temperatura e pressão, para alcançar o volume de gás desejado. Normalmente, durante a carbonatação, são utilizadas temperaturas de aproximadamente 2°C e pressão de aproximadamente 2,1 kgf/cm² (SHACHMAN, 2005).

O nível ideal de carbonatação adotado para cada bebida é o que garante o balanço final entre a liberação de aroma e a refrescância e, conseqüentemente, a aceitação pelo consumidor. Em termos gerais, bebidas cítricas são carbonatadas em nível baixo (1 volume de CO₂ / volume de bebida); colas, bebidas com conteúdo alcoólico, nível médio (2-3 volumes de CO₂ / volume de bebida); e bebidas como água tônica em nível alto (4,5 volumes de CO₂ / volume de bebida), para permitir diluição em licores não carbonatados (MURPHY, 1997; VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

Segundo Mitchell (1990), os fatores que determinam o grau de carbonatação são:

- A pressão no sistema;
- A temperatura do líquido: quanto menor a temperatura, maior a solubilidade do CO₂;
- O tempo de contato entre o líquido e o gás;

- A área da interface de contato entre o líquido e o CO₂;
- A afinidade do líquido com o CO₂: a água é mais receptiva ao gás do que soluções contendo açúcar ou sal;
- A presença de outros gases misturados com o CO₂: dependendo de suas quantidades e solubilidades, esses gases estranhos serão dissolvidos no lugar do CO₂, diminuindo a carbonatação.

2.10.3 Embalagens para produtos carbonatados

A maior preocupação em relação à deterioração de um produto carbonatado é justamente a perda da pressão do gás, o que está intimamente ligado ao tipo de embalagem e propriedades de barreira da mesma. O vidro e o metal proporcionam excelente barreira aos gases, enquanto que o material plástico depende de sua composição polimérica, formato e tamanho da embalagem (GILES, 1999; GORDON, 1993).

As embalagens de polietileno tereftalato (PET), são as mais utilizadas atualmente para o acondicionamento das bebidas carbonatadas não alcoólicas. De acordo com a Associação Brasileira de Refrigerantes e Bebidas Não Alcoólicas (ABIR), no ano de 2008, o PET liderou o mercado com uma participação de cerca de 80%, em relação aos outros tipos de embalagem.

As embalagens PET são mais leves e mais resistentes ao impacto que as garrafas de vidro. Seu custo de produção também é bem menor, em comparação com outros materiais (GILES, 1999).

Apesar de inúmeras vantagens da garrafa PET em relação às garrafas de vidro, por exemplo, elas são falhas em um pequeno aspecto: o material PET não apresenta 100% de barreira aos gases. As garrafas PET sob uma pressão interna de CO₂ vão gradualmente, através do tempo, perdendo o gás por difusão através das paredes da garrafa, resultando em uma queda nos níveis de carbonatação. Por essa razão, muitas companhias de refrigerantes estabelecem uma vida de prateleira por volta de 3 meses para os produtos envasados em PET. Outros,

também para compensar esta perda, costumam utilizar níveis maiores de volume de CO₂ do que os utilizados em produtos envasados em latas ou vidros (SHACHMAN, 2005).

De acordo com Giles (1999), 15% de perda de CO₂ em embalagens de 1,5 a 2 litros, cuja vida de prateleira é de 26 semanas, é tolerável. As garrafas menores possuem desvantagem na relação superfície/volume, portanto permitem uma maior perda de gás e, logo uma vida útil do produto menor.

2.11 Conservação química

Os conservantes são substâncias químicas capazes de inibir ou retardar o crescimento microbiano, não sendo capazes, portanto, de reduzir a contagem dos micro-organismos. Eles apenas interrompem quimicamente o processo de multiplicação celular dos mesmos (MITCHELL, 1990; SHACHMAN, 2005).

A maior parte dos conservantes químicos utilizados em alimentos é ácida, como por exemplo, os ácidos orgânicos e seus sais como sorbatos e benzoatos. Esses conservantes são mais efetivos na faixa de pH ≤ 5,5. Muitas bactérias são incapazes de se desenvolver em pH < 4,5, porém muitos bolores e leveduras podem crescer em pH = 1,6 e, requerem maiores cuidados (RUSSEL e GOULD, 2003).

Segundo Shachman (2005), os conservantes mais utilizados em bebidas carbonatadas são o benzoato de sódio (INS 211) e os sorbato de potássio (INS 202). Porém, comercialmente, os conservadores mais utilizados pelas indústrias de água de coco processadas (não carbonatadas) são o sulfito de sódio (INS 221) e o metabissulfito de sódio (INS 223).

A legislação brasileira, de acordo com a Resolução nº5, de 15 de janeiro de 2007 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), permite o uso dos seguintes agentes conservantes, para bebidas não alcoólicas, apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Conservantes químicos permitidos para bebidas.

Número INS	Conservador / Função	Limite Máximo (g/100mL)*
200	Ácido Sórbico	0,03 para bebidas com gás 0,08 para bebidas sem gás
201	Sorbato de Sódio	0,03 para bebidas com gás 0,08 para bebidas sem gás
202	Sorbato de Potássio	0,03 para bebidas com gás 0,08 para bebidas sem gás
203	Sorbato de Cálcio	0,03 para bebidas com gás 0,08 para bebidas sem gás
210	Ácido Benzoico	0,05
211	Benzoato de Sódio	0,05 (como ácido benzoico)
212	Benzoato de Potássio	0,05 (como ácido benzoico)
213	Benzoato de Cálcio	0,05 (como ácido benzoico)
216	Para-hidroxibenzoato de Propila, Propilparabeno	0,03
217	Para-hidroxibenzoato de Propila de Sódio, Propilparabeno de Sódio	0,03
218	Para-hidroxibenzoato de Metila, Metilparabeno	0,03
219	Para-hidroxibenzoato de Metila de Sódio, Metilparabeno de Sódio	0,03
220	Dióxido de Enxofre, Anidrido Sulfuroso	0,004
221	Sulfito de Sódio	0,004 (como SO ₂)
222	Bissulfito de Sódio, Sulfito Ácido de Sódio	0,004 (como SO ₂)
223	Metabissulfito de Sódio	0,004 (como SO ₂)
224	Metabissulfito de Potássio	0,004 (como SO ₂)
225	Sulfito de Potássio	0,004 (como SO ₂)
226	Sulfito de Cálcio	0,004 (como SO ₂)
227	Bissulfito de Cálcio, Sulfito Ácido de Cálcio	0,004 (como SO ₂)
228	Bissulfito de Potássio	0,004 (como SO ₂)
242	Dimetil Carbonato, Dicarbonato Dimetílico	0,025

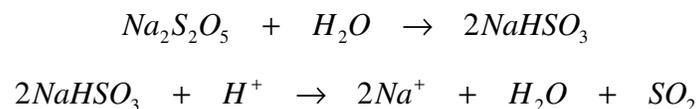
*Quando para uma determinada função, são autorizados dois ou mais aditivos, com limite máximo numérico estabelecido, mas a soma das quantidades a serem utilizadas no alimento não podem ser superior à quantidade máxima correspondente ao aditivo permitido em maior quantidade, e a quantidade de cada aditivo não poderá ser superior ao seu limite individual.

Fonte: BRASIL, 2007.

2.11.1 Dióxido de enxofre e sulfitos

Os primeiros relatos constam que o dióxido de enxofre (SO₂) foi utilizado como conservante para vinhos, através da queima do enxofre, antes da selagem do vinho nos barris de envelhecimento. Esse é um dos mais versáteis agentes usados em alimentos para a preservação e bastante eficaz contra bactérias, bolores e leveduras (MITCHELL, 1990).

Atualmente a forma gasosa é pouco utilizada, é em geral empregado na forma de um sal, como por exemplo, o metabissulfito de sódio que é convertido em dióxido de enxofre, quando em meio ácido, como mostrado nas reações a seguir:



O efeito microbiológico está relacionado com a diminuição do pH para aproximadamente 4,0, e por isso bastante empregado em muitas formulações de refrigerantes. Entretanto, a eficácia de sua ação de preservação é prejudicada pela tendência de reação com muitos componentes das frutas presentes na formulação dos refrigerantes, formando sulfitos orgânicos (MITCHELL, 1990).

Os agentes sulfitantes são usados em muitos produtos como vinhos, frutas e vegetais desidratados, sucos de frutas, picles, saladas, xaropes, carnes e peixes. Em adição ao seu efeito antimicrobiano, eles também são usados como antioxidante, inibindo reações enzimáticas e não enzimáticas de escurecimento (MAGA; TU, 1994).

O dióxido de enxofre e os sulfitos são considerados substâncias GRAS (Generally Recognized as Safe, ou Geralmente Reconhecido como Seguro), mas seus níveis de aplicação são restritos a 0,035% em vinhos, pois níveis maiores podem resultar em aromas indesejáveis, podendo ser detectado por provadores, e os sulfitos não são permitidos em alimentos considerados fontes de tiamina, porque eles são capazes de inativar a vitamina (MAGA e TU, 1994; MITCHELL, 1990).

Segundo Maga e Tu (1994), a ingestão de sulfitos em níveis normais presentes nos alimentos não resulta em acúmulo no corpo, pois são rapidamente oxidados como sulfato e excretados na urina. Porém, uma dose acima do tolerável (como 62 mg.kg^{-1} de massa corpórea) de dióxido de enxofre tem resultado em problemas psicológicos em ratos, incluindo polineurites, atrofia visceral, atrofia da medula óssea, disfunção renal e limitação no crescimento. Quando em contato direto com os olhos, o SO_2 é rapidamente absorvido e penetra na córnea, causando inflamação profunda. Mas, em geral ainda não foi reportado nenhum efeito mutagênico, teratogênico ou carcinogênico do SO_2 em ratos e camundongos.

Os sulfitos, entretanto, são associados como desencadeante de ataques asmáticos e outros efeitos alergênicos, podendo até mesmo ser fatal, em alguns casos de maior hipersensibilidade, como em pessoas asmáticas.

O comitê da FAO/WHO recomenda uma ingestão diária máxima de $0,7 \text{ mg.kg}^{-1}$ de massa corpórea (MAGA e TU, 1994; MITCHELL, 1990).

2.11.2 Ácido benzóico e benzoatos

O ácido benzóico ocorre naturalmente na natureza. Está presente em frutas e vegetais, e também é encontrado em algumas resinas, principalmente na goma benzoína e no carvão vegetal. Apenas a forma livre ou dissociada do ácido benzóico apresenta função de conservante e, conseqüentemente, seu uso é mais efetivo em soluções de baixo pH, sendo o ideal de aproximadamente 3,0 (MITCHELL, 1990).

O ácido benzóico é considerado GRAS, quando usado de acordo com as boas práticas de manufatura. De acordo com Maga e Tu (1994), o ácido benzóico é considerado como sendo moderadamente tóxico, causando dermatites alérgicas e irritação na pele e nos olhos. O benzoato de sódio também é considerado moderadamente tóxico, podendo ocasionar também irritações na pele, olhos e membrana das mucosas. Não há relatos de efeitos mutagênicos, teratogênicos e carcinogênicos, ou outros sinais clínicos adversos que relaciona a alimentação

animal ao ácido benzóico, porém, o mesmo não pode ser dito em relação ao benzoato de sódio, pois existem evidências que em certas situações o benzoato de sódio pode ter efeitos mutagênicos em humanos, mas mesmo assim, geralmente o benzoato é considerado um conservante seguro.

O comitê da FAO/WHO recomenda uma ingestão máxima diária de 5 mg.kg⁻¹ de massa corpórea (MITCHELL, 1990).

2.11.3 Ésteres do ácido para-hidroxi-benzóico ou parabenos

Esses conservantes, geralmente conhecidos como parabenos, são permitidos apenas em alguns países, para uso em refrigerantes sob a forma de metil, etil e propil ésteres e seus sais de sódio. Os parabenos demonstram uma boa tolerância aos baixos valores de pH e são mais efetivos que o ácido benzóico em valores de pH em torno de 3,0 (RUSSEL e GOULD, 2003).

Sua atividade antimicrobiana aumenta com o comprimento da cadeia, variando de metil a propil, mas este efeito é contrabalanceado pela diminuição da solubilidade e, conseqüentemente, os ésteres de menor cadeia são os mais utilizados em soluções aquosas, como os refrigerantes (MITCHELL, 1990).

O metil e propil parabenos são listados como GRAS nos E.U.A., enquanto que o heptil éster é apenas aprovado em bebidas à base de malte e não carbonatados. Os ésteres etil e butil são aprovados para o uso apenas em alguns países. Os ésteres etil e metil são considerados moderadamente tóxicos. Mas em cães, os parabenos podem causar depressão aguda do miocárdio e hipotensão, mas o efeito não é acumulativo (MAGA e TU, 1994).

O comitê da FAO/WHO recomenda uma ingestão máxima diária de 10mg.kg⁻¹ de massa corpórea (MITCHELL, 1990).

2.11.4 Ácido sórbico e sorbatos

O ácido sórbico ocorre naturalmente em frutas e vegetais. Assim, como o ácido benzóico, o ácido sórbico e os sorbatos apresentam atividade reduzida em pH mais elevado; porém seu limite de atividade é considerado alto, podendo agir em pH entre 6,0 e 6,5, sendo sua forma dissociada a que apresenta ação contra o desenvolvimento de micro-organismos. Sua ingestão diária máxima recomendada é de 12,5 mg.kg⁻¹ de massa corpórea (MITCHELL, 1990).

Devido à baixa solubilidade da forma livre do ácido, este conservante é introduzido à formulação na forma de sais de sódio, potássio e cálcio, sempre atentando ao fato de se evitar a precipitação do ácido livre em condições de baixos valores de pH.

De acordo com Russel e Gould (2003), muitas leveduras são inibidas em concentrações de 150 mg.kg⁻¹ de ácido sórbico em pH 3,5, enquanto que outras como a *Zygosaccharomyces bailii* podem tolerar 800 mg.kg⁻¹ e *Gluconobacter* podem crescer em até 1000 mg.kg⁻¹.

O ácido sórbico e seus sais são considerados moderadamente tóxicos e são caracterizados como GRAS. Usado nas concentrações permitidas para a preservação dos alimentos são considerados não tóxicos (MAGA e TU, 1994).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O processamento da água de coco e o estudo de estabilidade foram conduzidos na Planta Piloto de Frutas e Hortaliças e no Laboratório de Embalagem do DTA. A pesquisa foi dividida em três etapas, que consistiram de:

- Primeiro processamento: avaliação da carbonatação e degradação térmica dos conservantes químicos sorbato de potássio e metabissulfito de sódio.
- Segundo processamento: realização de planejamento experimental a fim de determinar a menor concentração dos conservantes sorbato de potássio e metabissulfito de sódio que proporcionam melhor qualidade ao produto final.
- Terceiro processamento: confirmação dos resultados obtidos no segundo processamento.

3.1 Material

3.1.1 Água de coco

Para a extração da água foram utilizados cocos verdes da variedade anã, com aproximadamente 6 meses de maturação, adquiridos de fornecedores da Central de Abastecimento (CEASA) de Campinas - SP. Os cocos foram mantidos em temperatura ambiente na Planta Piloto até o início de cada processamento.

3.1.2 Ingredientes da formulação

Para a padronização das amostras, utilizou-se açúcar refinado, como fonte de sacarose, da marca Caravelas, adquirido no comércio de Campinas - SP, e o ácido cítrico da marca Synth (Labsynth, Diadema - SP). Utilizou-se também o ácido ascórbico da marca Nuclear (Casa da Química, Diadema - SP) e os

conservantes químicos sorbato de potássio da marca Vetec (Vetec, Rio de Janeiro - RJ) e metabissulfito de sódio da marca Synth (Labsynth, Diadema - SP). A escolha de tais conservantes foi determinada pela dupla ação do metabissulfito de sódio, conservante e redutor (agindo na prevenção do escurecimento enzimático), e o sorbato de potássio, por ser largamente utilizado em produtos carbonatados. Nos ensaios, foram utilizadas concentrações, dos conservantes, dentro e acima do limite permitido pela legislação brasileira a fim de se verificar se a condição estabelecida é mesmo capaz de garantir a segurança do produto.

3.1.3 Embalagens

Foram utilizadas garrafas transparentes de polietileno tereftalato (PET), do tipo monocamada, que segundo testes realizados por Silva (2009), possuíam $16,49 \pm 0,05$ g, capacidade volumétrica total de $348,58 \pm 1,32$ mL e permeabilidade ao O_2 de $0,047 \pm 0,001$ cm³/embalagem/dia/atm a 25°C, e com a tampa, de $0,52 \pm 0,1$ cm³/embalagem/dia/atm a 25°C. Para o fechamento foram utilizadas tampas de rosca de polietileno de alta densidade (PEAD) com vedante (*liner*), diâmetro de 28 mm e peso de $3,28 \pm 0,02$.

3.1.4 Equipamentos

3.1.4.1 Extrator da água de coco

Utilizou-se o extrator desenvolvido por Faria (2003), e utilizado por Abreu (2005), Souza (2006) e Silva (2009), que é baseado no acionamento de um dispositivo pneumático que impulsiona o coco sobre um tubo cilíndrico pontiagudo e perfurado por onde se escoar a água de coco, como pode ser visto com detalhes na Figura 4.

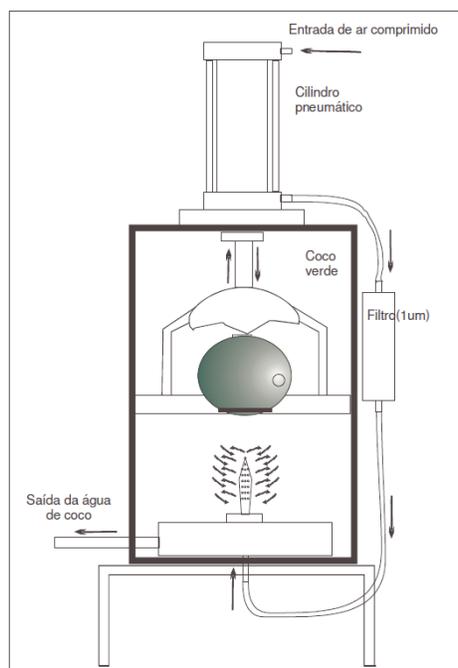


Figura 4 - Extrator de água de coco.

Fonte: ABREU, 2005.

3.1.4.2 Pasteurizador

Foi utilizado um pasteurizador do tipo placas, modelo Micro Plak Jr., da marca Sumá Indústria e Comércio Ltda (Campinas - SP), com vazão nominal de até 300 L.h^{-1} , alimentado com uma bomba de deslocamento positivo da marca Netzsch (Pomerode – SC), para transportar e filtrar o produto formulado.

3.1.4.3 Carbonatador

Para a carbonatação das amostras, utilizou-se um carbonatador desenvolvido por FARIA (2007), que consistiu na injeção do gás carbônico na amostra padronizada e resfriada a 2°C , através de uma válvula tipo Venturi, sob pressurização até se obter 2 a 3 volumes de carbonatação, conforme apresentado na Figura 5.

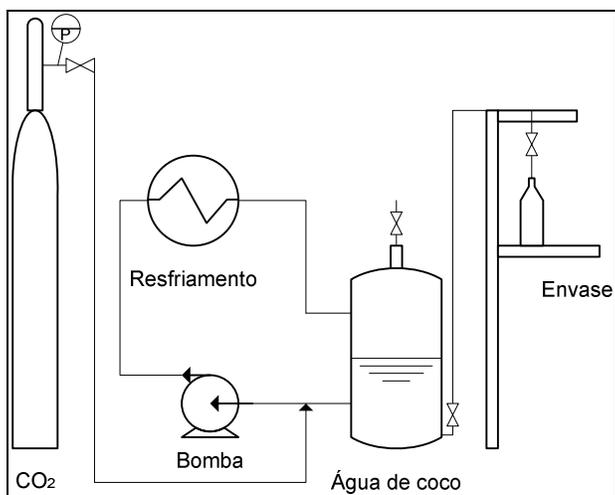


Figura 5 – Carbonatador.

3.2 Metodologia

Todos os processamentos foram realizados de acordo com o modelo de fluxograma apresentado na Figura 6.

No primeiro processamento, a adição dos conservantes ocorreu na etapa de padronização do produto e antes da carbonatação. No segundo e terceiro processamentos, a adição ocorreu apenas antes da carbonatação.

3.2.1 Higienização da matéria-prima

Os cocos verdes adquiridos da CEASA foram lavados em água corrente, para retirada das sujidades maiores. Posteriormente, foram imersos em solução de hipoclorito de sódio contendo 200 mg.L^{-1} de cloro ativo por 10 a 20 minutos. Em seguida, foram enxaguados em solução de hipoclorito de sódio com 5 mg.L^{-1} de cloro ativo (ABREU, 2005).

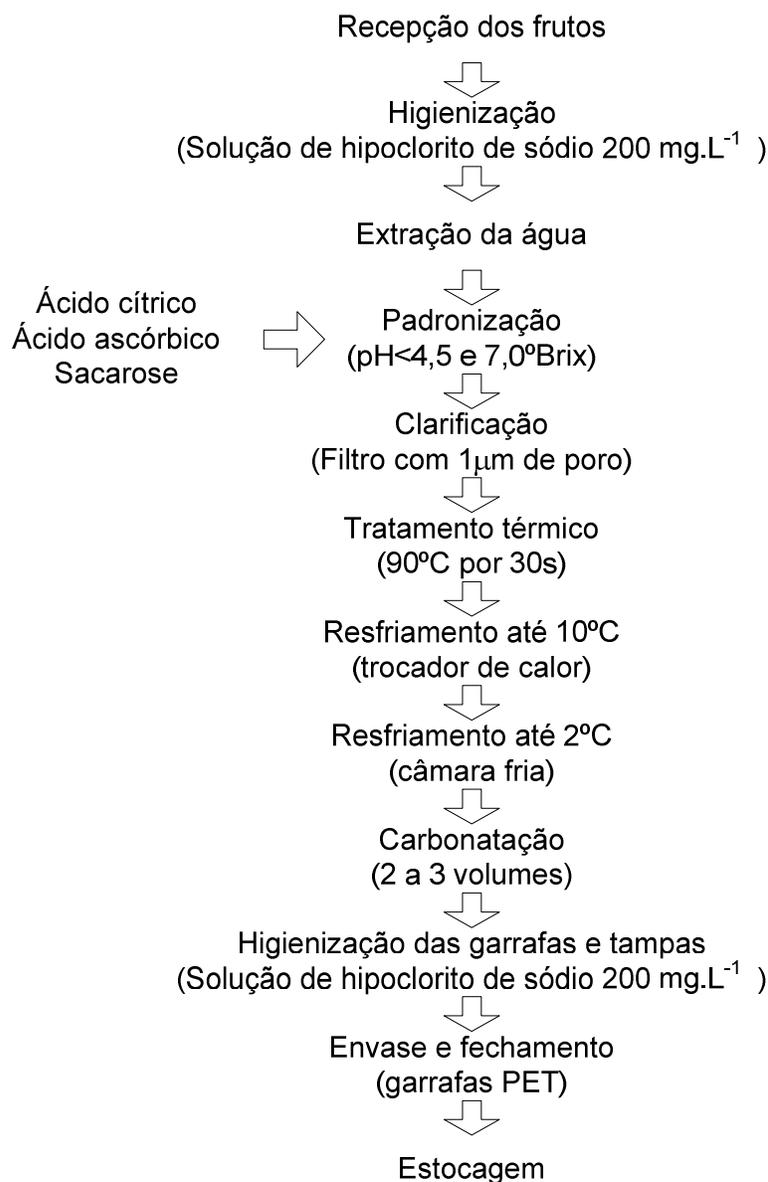


Figura 6 - Fluxograma de processamento, carbonatação e envase da água de coco.

3.2.2 Extração da água

Após a higienização dos cocos verdes, a extração da água foi realizada no extrator conforme descrito no item 3.1.4.1, com produção média de 100 L.h⁻¹.

3.2.3 Formulação

A formulação e padronização da água de coco foram baseadas na tese realizada por ABREU (2005), a qual determinou que a melhor aceitação foi para a formulação com pH entre 4,9 e 5,0 e Brix de 6,0. Para tal ajuste foram utilizados ácido cítrico e frutose. Porém, por questões de segurança, optou-se por utilizar uma formulação com pH menor que 4,5, a fim de inibir o desenvolvimento de micro-organismos patogênicos. Para compensar esta maior acidez, utilizou-se um maior teor de sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix} = 7,0$), mantendo-se aproximadamente o mesmo *Ratio*.

Adicionou-se, também, o ácido ascórbico com a finalidade de minimizar o escurecimento enzimático, causado pelas enzimas peroxidase e polifenoloxidase, na concentração de 200 mg.L^{-1} (ABREU; FARIA, 2007).

3.2.4 Clarificação

A água de coco padronizada foi clarificada através da passagem por um filtro tipo cartucho de polipropileno (porosidade $1 \mu\text{m}$), da marca Filterinter (Filterinter, Campinas – SP).

3.2.5 Tratamento térmico e resfriamento

A água de coco foi pasteurizada a 90°C por 30 segundos e, posteriormente, resfriada a 10°C no trocador de calor tipo placas, conforme descrito no item 3.1.4.2.

3.2.6 Carbonatação

A água de coco foi carbonatada para atingir 2 a 3 volumes de CO_2 /volume de bebida, no carbonatador descrito no item 3.1.4.3. Foi utilizado CO_2

pressurizado em cilindro de 7 m³, adquirido da White Martins S.A., Campinas - SP. Tal nível de carbonatação foi baseado na pesquisa realizada por Silva (2009).

3.2.7 Acondicionamento

A bebida foi acondicionada (envasada) em garrafas PET, previamente higienizadas com solução de hipoclorito de sódio com 200 mg.L⁻¹ de cloro ativo por 10 a 20 minutos, e enxaguadas com água filtrada. O fechamento das embalagens foi realizado manualmente.

3.2.8 Avaliação da estabilidade

A água de coco carbonatada, obtida no primeiro e segundo processamentos, foi armazenada à temperatura ambiente, e as amostras do terceiro processamento foram estocadas à temperatura ambiente e sob refrigeração (5°C), para avaliação gradual da vida de prateleira. Os estudos foram realizados por um período mínimo de 40 dias, através dos resultados das análises físico-químicas e microbiológicas.

3.2.9 Delineamento experimental

Para a adição dos conservantes da segunda etapa da pesquisa, foi utilizado um delineamento composto central rotacional (DCCR) com duas variáveis independentes, os conservantes sorbato de potássio e metabissulfito de sódio, com as respectivas faixas de avaliação: 0 a 500 mg.L⁻¹ e 0 a 100 mg.L⁻¹, conforme apresentado nas Tabelas 4, 5 e 6. As respostas obtidas nas análises de volume de carbonatação, pH, sólidos solúveis, O₂ dissolvido, CO₂ dissolvido, acidez titulável, concentração de ácido ascórbico, atividade das enzimas peroxidase e polifenoxidase, cor e turbidez foram analisadas estatisticamente através do programa STATISTICA 7.

Tabela 4 - Valores utilizados no DCCR do segundo processamento para dois fatores.

	-1,41	-1	0	+1	+1,41
Sorbato de potássio (mg.L ⁻¹)	0	73	250	427	500
Metabissulfito de sódio (mg.L ⁻¹)	0	15	50	85	100

Tabela 5 - Matriz do planejamento 2² do segundo processamento (valores codificados).

Ensaio	Sorbato de potássio (mg.L ⁻¹)	Metabissulfito de sódio (mg.L ⁻¹)
D	-1	-1
E	1	-1
F	-1	1
G	1	1
H	-1,41	0
I	1,41	0
J	0	-1,41
K	0	1,41
L	0	0
M	0	0
N	0	0

Tabela 6 - Matriz do planejamento 2² do segundo processamento (valores reais).

Ensaio	Sorbato de potássio (mg.L ⁻¹)	Metabissulfito de sódio (mg.L ⁻¹)
D	73	15
E	427	15
F	73	85
G	427	85
H	0	50
I	500	50
J	250	0
K	250	100
L	250	50
M	250	50
N	250	50



3.3 Análises físico-químicas da água de coco carbonatada

3.3.1 Volume de carbonatação

O volume de carbonatação foi medido de acordo com a norma ASTM F1115-95 (2001), na qual cada embalagem foi perfurada por uma agulha acoplada em um manômetro. Pela da leitura da pressão interna da garrafa e da temperatura da amostra realizou-se a determinação do volume de carbonatação através de tabela apropriada.

3.3.2 Potencial de hidrogênio (pH)

O potencial de hidrogênio (pH) da água de coco foi determinado utilizando-se o potenciômetro da marca Digimed (São Paulo - SP), modelo DM-20, a 25°C, com duas casas decimais de precisão.

3.3.3 Oxigênio dissolvido

A concentração de oxigênio dissolvido de cada amostra estocada foi determinada utilizando o medidor de O₂ dissolvido da marca Mettler Toledo modelo MO128 (Barueri - SP). Os resultados foram expressos em miligrama de O₂ dissolvido por litro de amostra.

3.3.4 Gás carbônico dissolvido

A concentração de gás carbônico dissolvido na água de coco carbonatada foi determinada utilizando eletrodo de CO₂ da marca Thermo Scientific, modelo Orion 720A (representado no Brasil por Analyser, São Paulo - SP). Os resultados foram expressos em miligrama de CO₂ dissolvido por litro de amostra.

3.3.5 Sólidos solúveis

A determinação da concentração de sólidos solúveis (°Brix) foi realizada utilizando-se o refratômetro portátil da marca Optech, modelo RCZ (Guarulhos - SP), com escala de 0 a 32% e resolução de 0,2%.

3.3.6 Acidez titulável

A determinação da acidez titulável foi realizada baseada no método 942.15 da AOAC (1997), na qual foram tomados 10 mL de cada amostra e o volume foi completado para 100 mL com água destilada. Adicionaram-se 3 gotas do indicador fenolftaleína e titulou-se com solução padronizada de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1N, até ponto de viragem de incolor para rosa. Os resultados foram expressos em mililitros de NaOH 0,1N por 100 mL de amostra.

3.3.7 Ácido ascórbico

Para a concentração de ácido ascórbico, tomou-se 10 mL de amostra e adicionou-se 50 mL de solução de ácido oxálico a 1%. Titulou-se a mistura com solução padronizada de dicloroindofenol (DCFI) 2 g.L⁻¹. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico não oxidado por litro de amostra.

3.3.8 Cor e turbidez

A cor e a turbidez foram determinadas em colorímetro da marca Hunterlab, modelo Colorquest II. Foi utilizado o sistema CIELAB, com iluminante D65, ângulo do observador de 10°, calibração do tipo TTRAN e medida de HAZE (turbidez). Para a cor, foram considerados os seguintes parâmetros:

- L*: luminosidade, variando de 0 (preto) a 100 (branco);
- a*: cromaticidade, variando de +a* (vermelho) a -a* (verde);
- b*: cromaticidade, variando de +b* (amarelo) a -b* (azul).

3.3.9 Atividade enzimática

Para a determinação da atividade enzimática da polifenoloxidase e peroxidase, foi utilizado um método espectrofotométrico adaptado da metodologia descrita por Campos et al. (1996). Utilizou-se o espectrofotômetro da marca Beckman modelo DU-70. Para a análise da polifenoloxidase, foram adicionados em uma cubeta 1,3 mL de solução tampão fosfato 0,35M (pH 6,0), 0,7 mL de solução de catecol 0,2 M e 2 mL de amostra de água de coco, à temperatura ambiente, seguido de leitura de absorbância em espectrofotômetro a 425nm, no tempo zero e após 10 minutos de reação.

Para a análise da peroxidase, foram adicionados em uma cubeta 1,3 mL de solução tampão fosfato 0,35 M (pH 5,5). Esta solução foi levada ao banho-maria até atingir 35°C. Posteriormente, adicionou-se 2 mL da amostra de água de coco, 0,5 mL de solução alcoólica de guaiacol 0,5% e 0,2 mL de solução de peróxido de hidrogênio 0,1%, seguido de leitura de absorbância em espectrofotômetro a 470 nm, no tempo zero e após 10 minutos de reação.

Para as duas análises, utilizou-se como branco a mistura dos respectivos reagentes, substituindo-se a amostra de água de coco por água destilada.

A atividade foi expressa em unidades/mL.minuto, cuja unidade equivale à variação de 0,001 na absorbância da amostra. Para o cálculo da atividade, utilizou-se a Equação 1.

$$Atividade\ enzimática\ (U.mL^{-1}) = \frac{(AF_{amostra} - AI_{amostra}) - (AF_{branco} - AI_{branco})}{0,001 \times t \times 2} \quad \text{Equação (1)}$$

Onde,

$AF_{amostra}$ é a absorbância final da amostra, $AI_{amostra}$ é a absorbância inicial da amostra, AF_{branco} é a absorbância final do branco, AI_{branco} é a absorbância inicial do branco e t é o tempo em minutos.

3.3.10 Análises microbiológicas

Foram realizadas as análises microbiológicas segundo Silva, Junqueira e Silveira (2001), a saber:

- Contagem padrão, utilizando o meio de cultura Plate Count Agar (PCA) e temperatura de inoculação a 35°C ;
- Contagem de bolores e leveduras, usando o meio de cultura Potato Dextrose Agar (PDA) e o antibiótico cloranfenicol e temperatura de incubação a 23°C.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Primeiro processamento

O primeiro processamento foi realizado com três amostras de água de coco, de acordo com a composição apresentada na Tabela 7. Nesse processamento a padronização e adição dos conservantes sorbato de potássio e metabissulfito de sódio foram realizadas antes da pasteurização do produto.

Tabela 7 - Composição das amostras do primeiro processamento.

Amostra	Carbonatação	Sorbato de potássio (mg.L ⁻¹)	Metabissulfito de sódio (mg.L ⁻¹)
A	Sim	300	40
B	Sim	400*	80*
C	Não	300	40

*Na amostra B foram adicionados 300 mg.L⁻¹ de sorbato de potássio e 40 mg.L⁻¹ de metabissulfito de sódio, antes da pasteurização, e acrescentados mais 100 mg.L⁻¹ e 40 mg.L⁻¹ de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio, respectivamente, antes da carbonatação.

As amostras foram avaliadas durante 54 dias de estocagem à temperatura ambiente (25 ± 4°C). Na avaliação da carbonatação, verificou-se que o equipamento utilizado atingiu valor médio de 1,5 volumes, o qual se considerou baixo, uma vez que em estudo realizado por Silva (2009) revelou que aproximadamente 42% dos provadores consideraram um volume de carbonatação ideal para a água de coco entre 3,1 e 3,4, e 40% dos mesmos provadores preferiram um volume entre 4,1 e 4,3. Porém, o equipamento utilizado nesta pesquisa não permitia atingir volumes tão elevados como os verificados.

Durante a verificação da estabilidade, observou-se que as amostras A e B apresentaram um pico no volume de carbonatação aos 7 dias de estocagem, seguida de uma queda, e permanecendo entre 1,0 a 1,5 volumes até o final do período. Durante todo o tempo de estocagem, a amostra C não apresentou medida de carbonatação, o que representa uma não formação de gases, ou seja,

ausência também de desenvolvimento microbiano nesta, como pode ser observado na Figura 7.

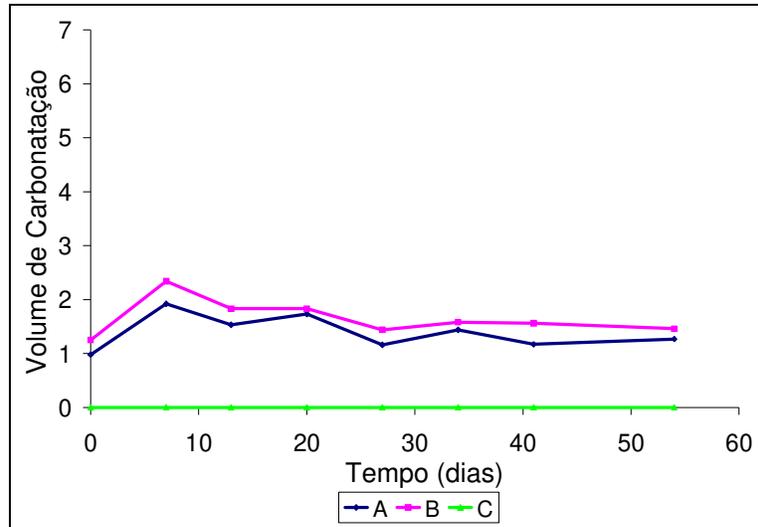


Figura 7 - Volume de carbonatação das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.

O pH das amostras permaneceu praticamente constante entre 4,4 e 4,5, com exceção da amostra A, que apresentou um decréscimo no décimo terceiro dia de estocagem, chegando ao valor de 4,29, como pode ser verificado na Figura 8. Como essa pequena variação foi pontual, isso não caracteriza uma possível deterioração do produto.

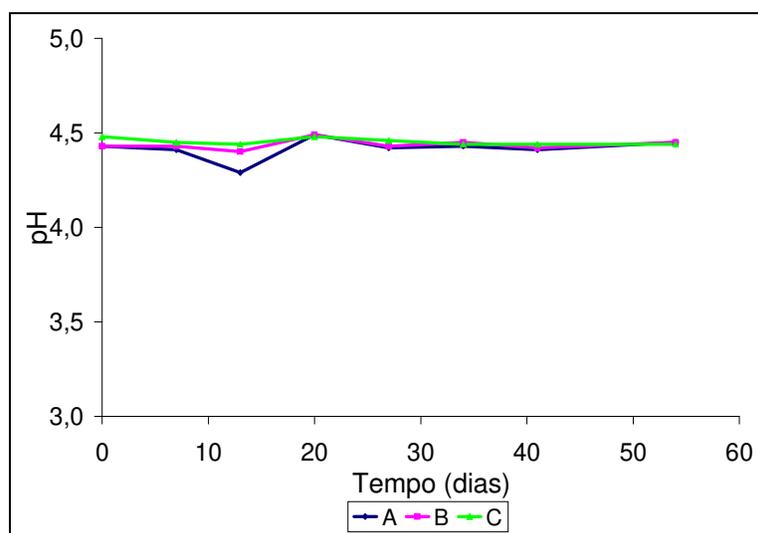


Figura 8 - pH das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.

A concentração de oxigênio (O_2) dissolvido das amostras A e B foi baixa, indicando o efeito da carbonatação sobre o oxigênio residual na água de coco. Já a amostra C, que não foi carbonatada, apresentou concentração inicial de $2,80 \text{ mg.L}^{-1}$ de O_2 dissolvido, chegando a extinguir-se aos 20 dias após o processamento, como pode ser verificado na Figura 9. Esta diminuição também está associada à redução da concentração de ácido ascórbico na mesma amostra, a partir do vigésimo dia de estocagem, como pode ser visto na Figura 13.

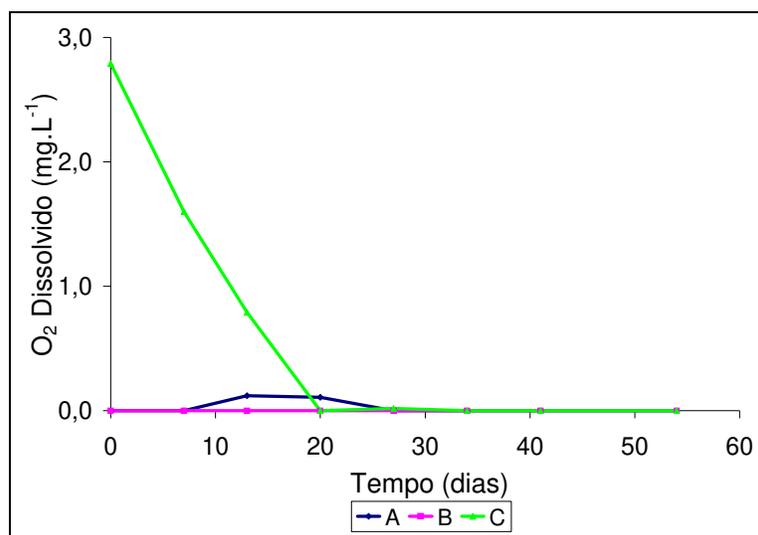


Figura 9 - Concentração de O_2 dissolvido das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.

A concentração de dióxido de carbono (CO_2) dissolvido apresentou um pico entre os dias 27 e 34, nas amostras A e B. Para os demais dias, essas amostras apresentaram uma pequena variação, entre 4300 a 4900 mg.L^{-1} . A amostra C, como não sofreu carbonatação, permaneceu com uma baixa concentração do gás dissolvido, apresentando um máximo de 1310 mg.L^{-1} , como pode ser observado no gráfico da Figura 10.

O teor de sólidos solúveis apresentou pequena variação durante o período de estocagem, para as três amostras avaliadas. Seus valores permaneceram entre $7,0$ e $7,5^\circ$ Brix, conforme dados apresentados no gráfico da Figura 11. Essa pequena variação representa um indicativo do não desenvolvimento de micro-organismo nas amostras.

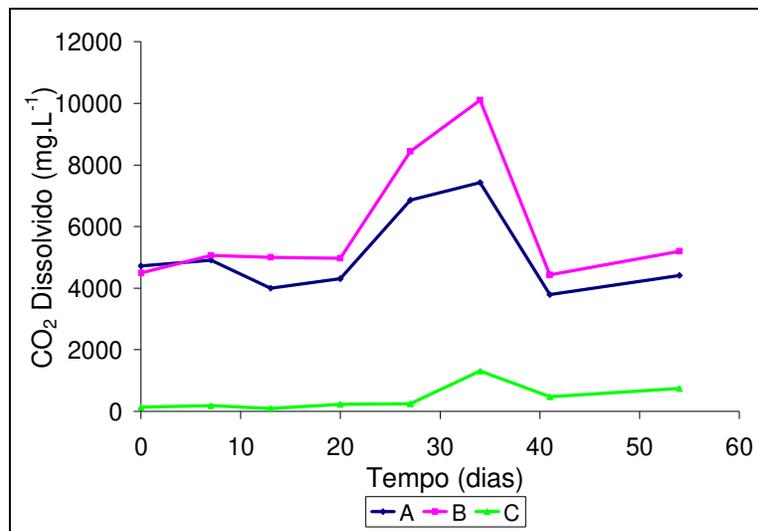


Figura 10 - Concentração de CO₂ dissolvido das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.

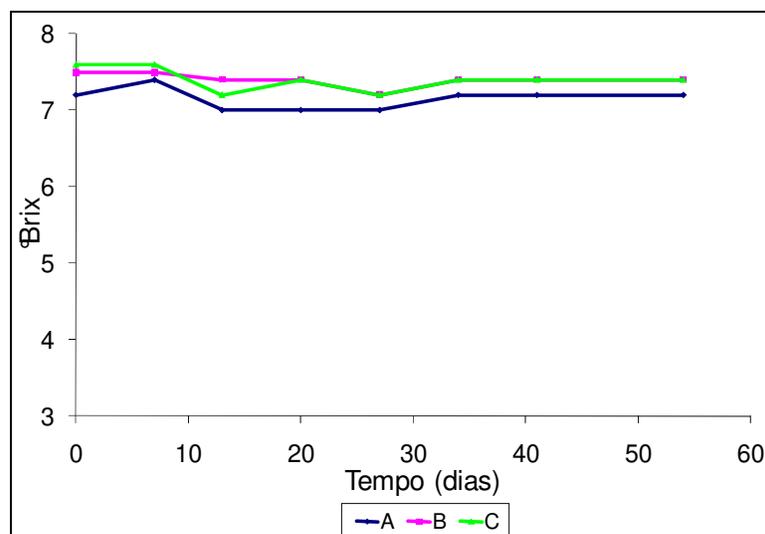


Figura 11 - Sólidos solúveis das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.

Na Figura 12, é apresentado o gráfico da acidez titulável das amostras em função do tempo de estocagem. As amostras carbonatadas, A e B, apresentaram um aumento expressivo da acidez nos últimos dias de estocagem, atingindo o valor de 37,95 e 38,97 mL de NaOH 0,1N por 100 mL de amostra, respectivamente. Já a amostra C sofreu pequena variação durante todo o período.

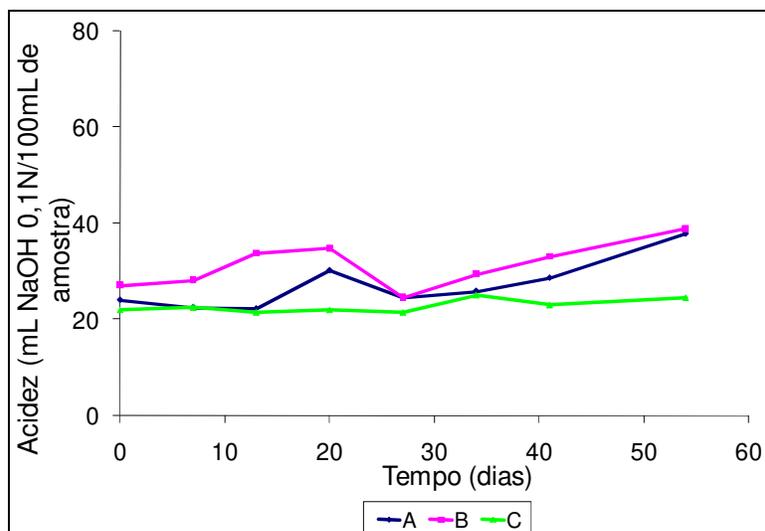


Figura 12 - Acidez titulável das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.

Na avaliação da concentração de ácido ascórbico (Figura 13), a amostra A apresentou uma melhor estabilidade, tendo sua concentração diminuída apenas na última semana de observação. Já a amostra B apresentou comportamento bastante inconstante, com um menor valor observado aos 27 dias, estocagem coincidindo com o menor valor de acidez dessa amostra, como pode ser visualizado no gráfico da Figura 12. A amostra C mostrou um rápido decréscimo durante a estocagem, o que demonstra uma associação com a carbonatação, uma vez que esta amostra apresentou uma concentração de O_2 inicial maior que as demais.

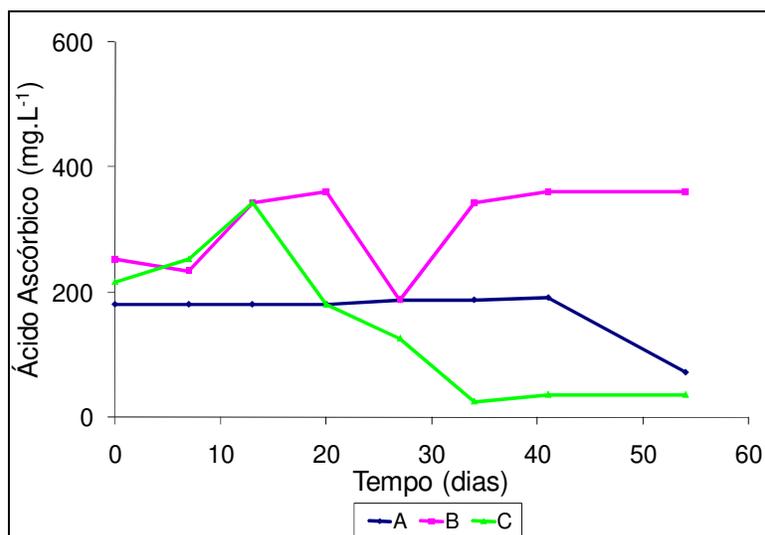


Figura 13 - Concentração de ácido ascórbico das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.

Todas as amostras apresentaram baixa medida de atividade das enzimas polifenoloxidase e peroxidase, valores sempre menores que $0,5 \text{ U.mL}^{-1}$, como pode ser observado nas Figuras 14 e 15. Esses valores podem estar associados à eficiência do tratamento térmico e dos aditivos sobre a inativação dessas enzimas. Observou-se apenas um pico de regeneração da enzima peroxidase aos 27 dias de estocagem, sendo que a amostra C, que apresentou maior concentração de O_2 dissolvido, foi também a que apresentou maior atividade durante o período. Já a enzima polifenoloxidase apresentou dois picos de regeneração durante o período de estocagem, um aos 20 dias e outro aos 34 dias, porém, neste caso, foi a amostra A que apresentou maior atividade.

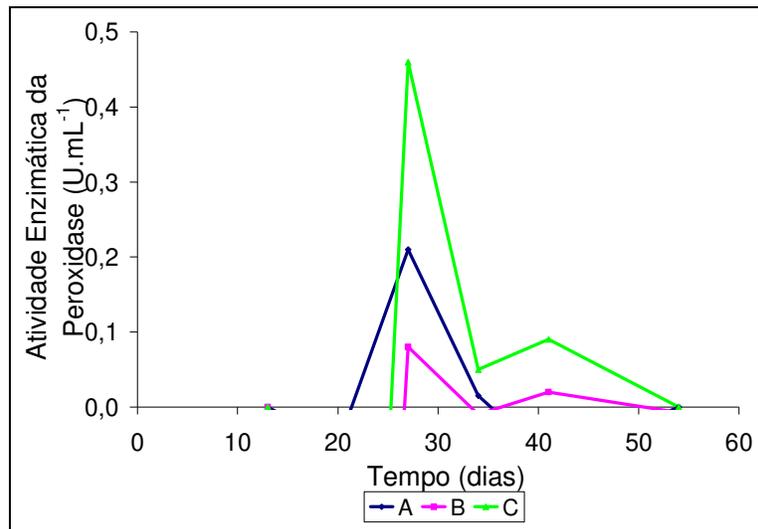


Figura 14 - Atividade enzimática da peroxidase das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.

Na amostra B, a luminosidade, também chamada de cor L^* , praticamente não apresentou alterações. Na amostra A, verificou-se apenas um pequeno decréscimo desse atributo no final do período de observação, já a amostra C apresentou uma diminuição significativa aos 34 dias de estocagem, como pode ser visto na Figura 16.

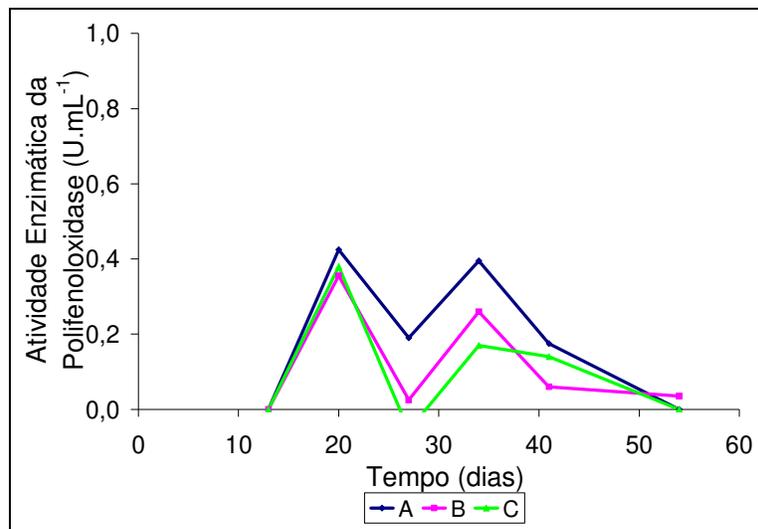


Figura 15 - Atividade enzimática da polifenoloxidase das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.

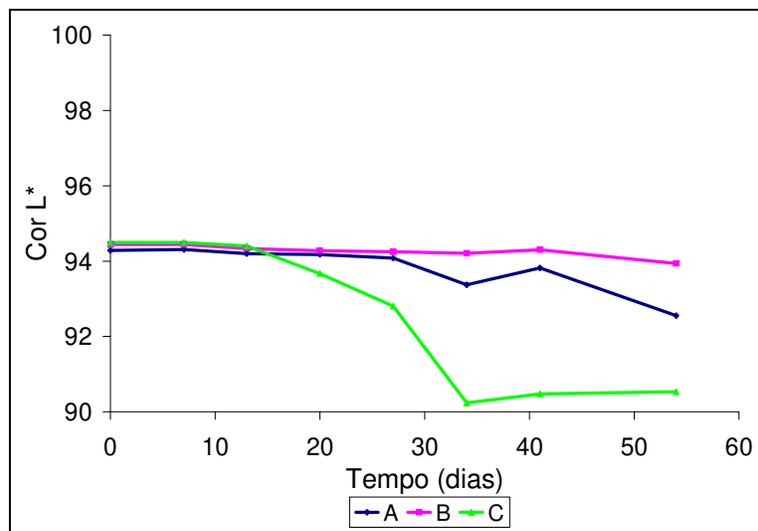


Figura 16 - Luminosidade das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.

Na avaliação da cor a^* , a amostra B apresentou pequena variação, a amostra A, uma grande redução, e a amostra C, uma variação inconstante. Todas as amostras apresentaram apenas tonalidades verde (-a), como pode ser observado na Figura 17.

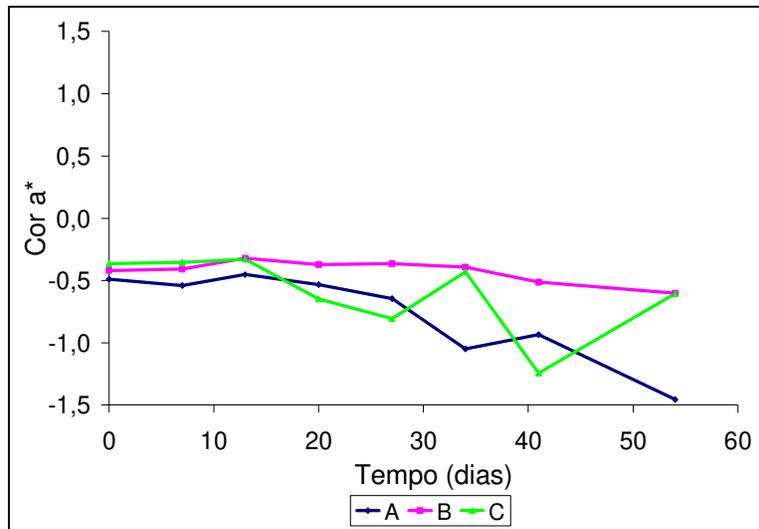


Figura 17 - Cor a* das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.

A análise da cor b* revelou pouca variação para a amostra B, um pequeno aumento para a amostra A e bastante elevação para a amostra C. A alteração de cor da amostra C pode estar relacionada à atividade da enzima peroxidase e também à degradação do ácido ascórbico, reações essas que estão intimamente ligadas à presença de O₂ dissolvido na amostra. Todas as amostras apresentaram apenas tonalidade amarela e valores positivos de cor b*, como pode ser observado na Figura 18.

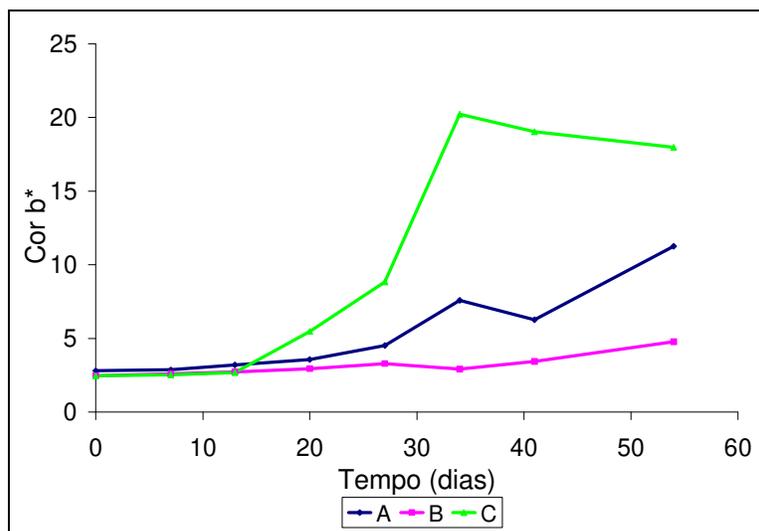


Figura 18 - Cor b* das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.

Na Figura 19 é apresentada a variação da turbidez. Houve pouca alteração nas três amostras. A exceção foi um pico apresentado pela amostra C aos 34 dias de estocagem, o que pode ter sido um fato isolado associado à amostra utilizada para o ensaio, pois essa apresentou alterações nos parâmetros de cor, também nas outras análises realizadas nesse mesmo dia.

Em pesquisa realizada por Silva (2009), amostras de água de coco carbonatada apresentaram aumento considerável da turbidez, passando de aproximadamente 10,00 para mais de 87,00 em apenas 15 dias de estocagem à temperatura ambiente, porém tais amostras não continham conservantes químicos e apresentaram desenvolvimento microbiológico.

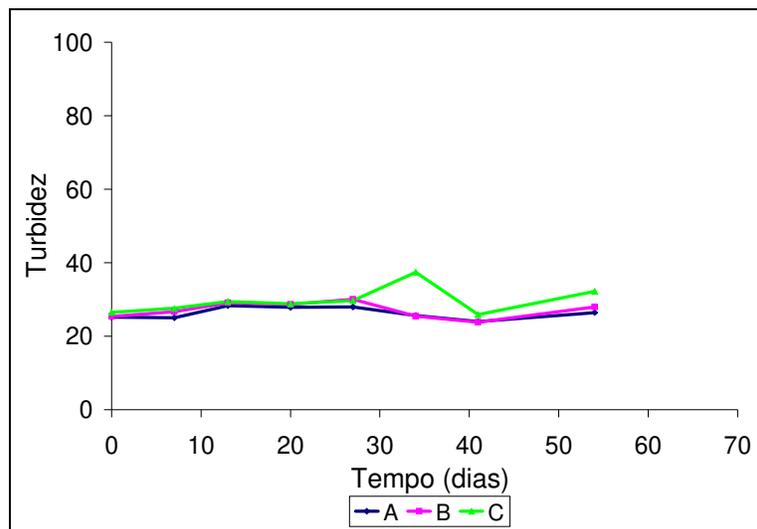


Figura 19 - Turbidez das amostras A, B e C durante a estocagem ambiente.

Na avaliação microbiológica das amostras, as mesmas não apresentaram variações durante toda a estocagem. Foram realizadas duas análises, uma aos 5 dias e outra aos 42 dias de estocagem. Em ambas, todas as amostras apresentaram contagem $< 1,0 \text{ UFC.mL}^{-1}$ para a contagem total de micro-organismos e, $< 10 \text{ UFC.mL}^{-1}$ para a contagem de bolores e leveduras.

4.1.1 Conclusão

Com base nos resultados apresentados, verificou-se que com a amostra B, obtiveram-se os melhores resultados, ou seja, as menores alterações durante o período de teste sob estocagem ambiente. Como esta amostra apresentou o diferencial de ter sido adicionado uma dose extra de conservantes após o tratamento térmico, optou-se por prosseguir os testes seguintes adicionando os conservantes químicos apenas após o tratamento térmico. Verificou-se, ainda, que a carbonatação da amostra foi bastante eficiente na preservação das características da água de coco, pois a amostra C, que não foi carbonatada sofreu uma alteração mais drástica e em um período de tempo bem mais curto que as demais. Esse fato só vem a confirmar a elevada instabilidade da água de coco em relação à presença do oxigênio dissolvido.

4.2 Segundo processamento

Foi realizada uma caracterização da matéria-prima (água de coco *in natura*) e da água de coco após a padronização e tratamento térmico (sem adição de conservantes e carbonatação). Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 8, onde foi possível observar que o processamento térmico, em conjunto com a padronização e aditivção, foi eficiente para diminuir o pH da amostra para um valor < 4,5. Isso confere uma maior segurança ao produto e valores desprezíveis de atividade enzimática para as duas enzimas avaliadas. Não ocorreram alterações nos parâmetros de cor e turbidez, mas houve uma redução significativa na contagem total de micro-organismos após o processamento.

Tabela 8 - Caracterização da água de coco *in natura* e após padronização e tratamento térmico do segundo processamento.

Atributo	Água de coco <i>in natura</i>	Água de coco processada
pH	4,86	4,12
Brix	5,5	7,0
Acidez (mL NaOH 0,1N/100mL)	9,23	33,85
Ácido ascórbico (mg.L ⁻¹)	105,45	562,40
Peroxidase (U.mL ⁻¹)	3,50	0,00
Polifenoloxidase (U.mL ⁻¹)	12,71	0,00
Cor L*	94,4	94,65
Cor a*	-0,37	0,30
Cor b*	3,01	2,34
Turbidez	32,54	31,05
Contagem total (UFC.mL ⁻¹)	1,0 · 10 ³	<1,0
Contagem de bolores e leveduras (UFC.mL ⁻¹)	<1,0 · 10 ¹	<1,0 · 10 ¹

Nesse processamento a adição dos conservantes químicos foi realizada após o tratamento térmico e antes da carbonatação, como foi definido no primeiro processamento. A adição dos conservantes foi realizada de acordo com o DCCR apresentado no item 3.1.11.

As amostras foram avaliadas durante 62 dias de estocagem à temperatura ambiente ($20 \pm 1^\circ\text{C}$). No acompanhamento do volume de carbonatação, observou-se uma expressiva elevação do atributo na amostra J acompanhado de visível estufamento das embalagens, caracterizando desenvolvimento microbiológico no produto. A amostra F também apresentou alguns pontos de estufamento durante o período. No tempo final de observação, a amostra D também apresentou aumento excessivo na carbonatação, como pode ser observado na Figura 20. Nas demais amostras não houve alteração significativa.

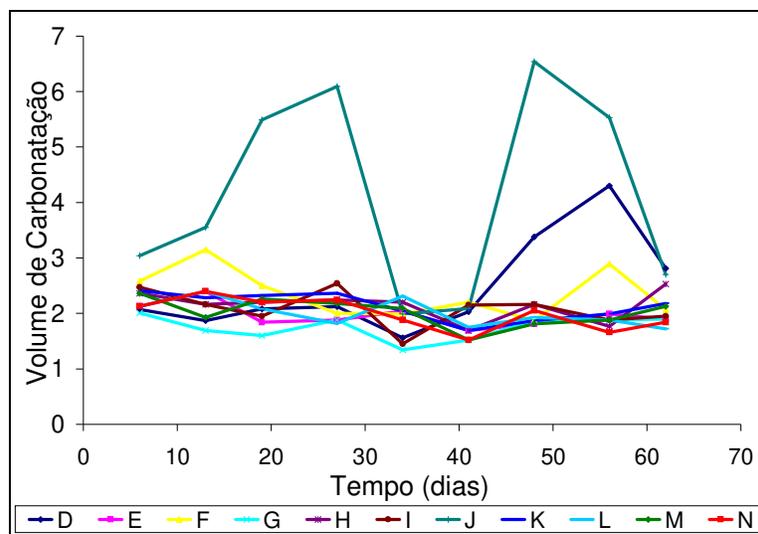


Figura 20 - Volume de carbonatação das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante a estocagem ambiente.

Teoricamente, o volume de carbonatação das amostras não deveria se alterar com o tempo. Apenas uma diminuição do valor seria aceitável devido à permeabilidade da embalagem PET, permitindo a perda do gás para o ambiente. Porém o aumento do volume de carbonatação de algumas amostras pôde ser atribuído ao desenvolvimento de micro-organismos formadores de gases, e quanto menor a concentração de conservantes na amostra, maior foi a formação de gases.

Na análise estatística dos dados, ao final do período de estocagem, verificou-se que a concentração dos conservantes, dentro da faixa estudada, influenciou significativamente nas respostas a um nível de 10%. Na Tabela 9 são

apresentados os efeitos estimados dos ajustes de segunda ordem para a carbonatação das amostras, onde se pode verificar que apenas a variável sorbato de potássio, quadrática, x_1 (Q), e interação entre as duas variáveis, (1)x(2), não apresentaram efeito significativo.

Tabela 9 - Efeitos estimados para um ajuste de segunda ordem, representando a relação entre o volume de carbonatação e as variáveis do processo.

	Efeito	Erro Padrão	t(5)	p-valor
Média	2,00	0,11	17,94	0,00001
(1) x_1 (L)	-0,48	0,14	-3,47	0,01779
x_1 (Q)	0,15	0,16	0,93	0,39432
(2) x_2 (L)	-0,37	0,14	-2,70	0,04296
x_2 (Q)	0,35	0,16	2,16	0,08319
(1) x (2)	0,37	0,19	1,91	0,11399

Onde, x_1 : sorbato de potássio, x_2 : metabissulfito de sódio, L: termo linear da equação, Q: termo quadrático da equação.

Baseado nos efeitos estimados foi possível determinar os coeficientes de regressão e a equação que prediz o volume de carbonatação das amostras, ao final de 62 dias de estocagem, como apresentado na Equação (2):

$$\text{Volume de carbonatação} = 2,07 - 0,24x_1 - 0,18x_2 + 0,15x_2^2 \quad \text{Equação (2)}$$

Onde,

x_1 : concentração de sorbato de potássio e x_2 : concentração de metabissulfito de sódio.

Através do cálculo da análise de variância (ANOVA), apresentado na Tabela 10, pode-se verificar que a regressão foi significativa, pois apresentou valor de F calculado (F_{cal}) maior que o valor de F tabelado (F_{tab}). As respostas também estão bem representadas pela regressão, apresentando um valor de variação explicada, R^2 de 70,92%.

Tabela 10 – Cálculo da ANOVA para o volume de carbonatação.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrados médios	F cal	F tab
Regressão	0,87	3	0,29	5,69	3,07
Resíduo	0,36	7	0,05		
Total	1,23	10			

$$R^2 = 70,92\%$$

Nas Figuras 21(a) e (b), são apresentas as superfícies de resposta e as curvas de contorno para o volume de carbonatação, onde se verifica que quanto menor a concentração dos dois conservantes, maior o volume de carbonatação. Tal volume pode estar associado ao desenvolvimento de micro-organismos formadores de gases, uma vez que, neste caso, a amostra está menos protegida.

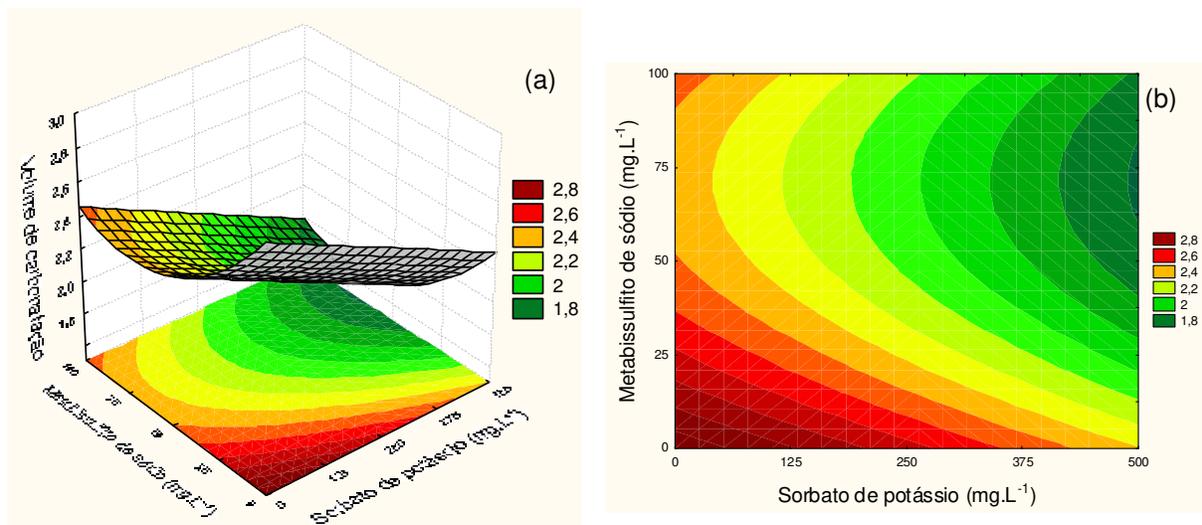


Figura 21 - Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) para o volume de carbonatação das amostras, em função da concentração de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio.

O pH das amostras sofreu pequena alteração. A exceção foi a amostra F que apresentou $\text{pH} < 4,0$ em algumas observações durante o período de estocagem, como pode ser visto na Figura 22. Esses pontos coincidem com picos apresentados pela amostra nas análises de volume de carbonatação e determinação de acidez, o que pode estar associado à contaminação da amostra por micro-organismos deteriorantes.

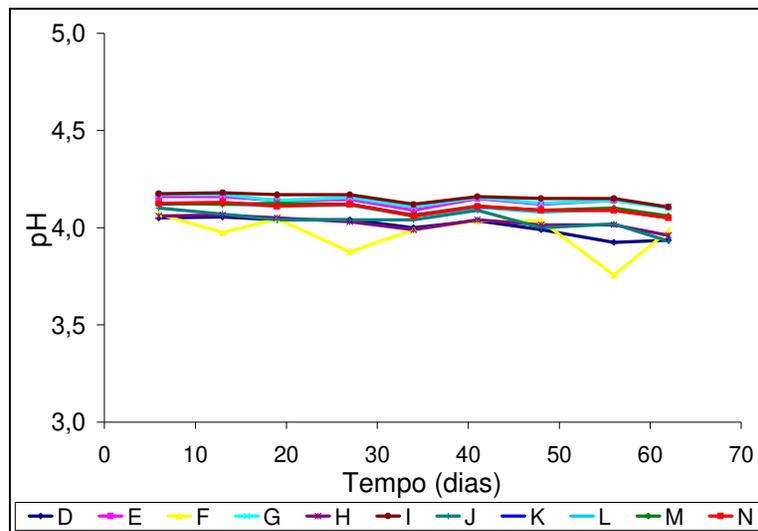


Figura 22 - pH das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante estocagem ambiente.

A análise estatística dos resultados obtidos para o pH, no final do período de estocagem, mostrou que a concentração dos conservantes, foi significativa ($p < 0,1$) dentro da faixa estudada. Na Tabela 11 são apresentados os efeitos estimados para o ajuste de segunda ordem para o valor do pH, onde se verificou que os efeitos da variável sorbato de potássio quadrática e da interação entre sorbato de potássio e metabissulfito de se sódio não foram significativos.

Tabela 11 - Efeitos estimados para um ajuste de segunda ordem, representando a relação entre o pH e as variáveis do processo.

	Efeito	Erro Padrão	t(5)	p-valor
Média	4,05	0,02	256,09	<0,00001
(1) x_1 (L)	0,12	0,02	6,35	0,00143
x_1 (Q)	-0,01	0,02	-0,31	0,77122
(2) x_2 (L)	0,05	0,02	2,70	0,04256
x_2 (Q)	-0,05	0,02	-2,26	0,07360
(1) x (2)	-0,03	0,03	-1,09	0,32372

Onde, x_1 : sorbato de potássio, x_2 : metabissulfito de sódio, L: termo linear da equação, Q: termo quadrático da equação.

Baseado no resultado dos efeitos, foi possível determinar os coeficientes de regressão e a equação que prediz o pH das amostras ao final de período de estocagem, como apresentado na Equação (3):

$$pH = 4,05 + 0,06x_1 + 0,03x_2 - 0,02x_2^2 \quad \text{Equação (3)}$$

Onde,

x_1 : concentração de sorbato de potássio e x_2 : concentração de metabissulfito de sódio.

Com o cálculo da ANOVA, apresentado na Tabela 12, verificou-se que a regressão foi altamente significativa, pois apresentou F_{cal} bem maior que o F_{tab} . A variação explicada dos resultados também foi boa, com 89,34%.

Tabela 12 – Cálculo da ANOVA para o pH.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrados médios	F cal	F tab
Regressão	0,0396	3	0,01321	19,56	3,07
Resíduo	0,0047	7	0,00068		
Total	0,0444	10			

$R^2 = 89,34\%$

Nas Figuras 23 (a) e (b), são apresentas as superfícies de resposta e curvas de contorno para o pH, verificando-se que quanto menor a concentração dos dois conservantes, menor também é o pH da amostra no final do período de estocagem.

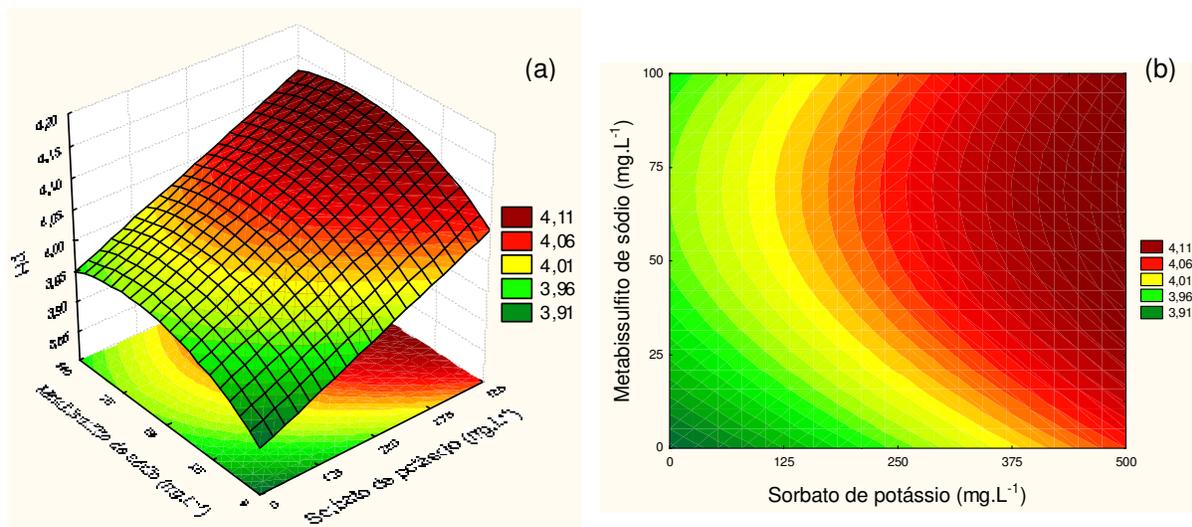


Figura 23 - Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) para o pH das amostras, em função da concentração de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio.

A concentração de O₂ dissolvido em todas as amostras foi praticamente zero durante todo o período de estocagem. Esse fato demonstra a eficiência do processo de carbonatação, ao substituir o gás ambiente pelo CO₂, assim protegendo as amostras contra as ações indesejáveis do O₂.

Em relação à concentração de CO₂ dissolvido, esta variou pouco entre as amostras. Apenas a amostra J apresentou uma elevação expressiva, o que também foi evidenciado no aumento do volume de carbonatação. Na Figura 24 é apresentada a evolução da concentração de CO₂ dissolvido nas amostras durante a estocagem.

Na análise estatística dos resultados da concentração final de CO₂ dissolvido, apenas a concentração do conservante metabissulfito de sódio (termos linear) foi significativa a um nível de 10%. Na Tabela 13 são apresentados os efeitos estimados para o ajuste de segunda ordem para concentração de CO₂ das amostras.

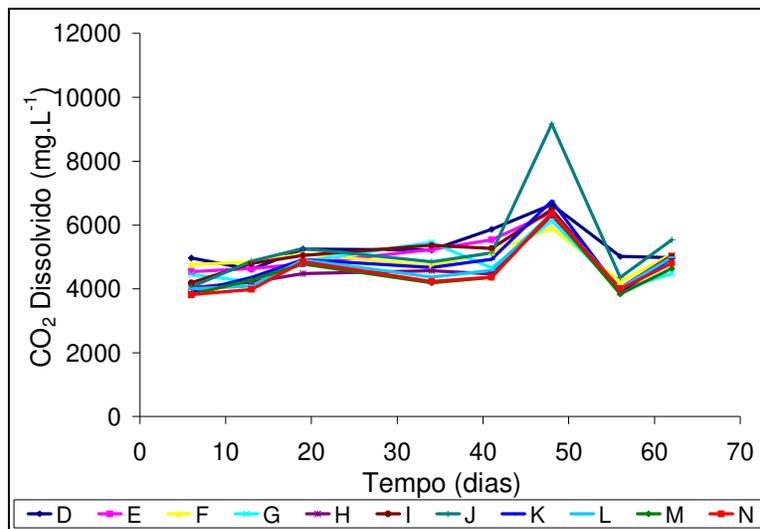


Figura 24 - Concentração de CO₂ dissolvido das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante a estocagem ambiente.

Tabela 13 - Efeitos estimados para um ajuste de segunda ordem, representando a relação entre a concentração de CO₂ dissolvido e as variáveis do processo.

	Efeito	Erro Padrão	t(5)	p-valor
Média	4813,33	123,97	38,83	<0,00001
(1) x ₁ (L)	-149,36	151,83	-0,98	0,37045
x ₁ (Q)	89,79	180,72	0,50	0,64036
(2) x ₂ (L)	-316,31	151,83	-2,08	0,09168
x ₂ (Q)	314,79	180,72	1,74	0,14200
(1) x (2)	-327,50	214,73	-1,53	0,18773

Onde, x₁: sorbato de potássio, x₂: metabissulfito de sódio, L: termo linear da equação, Q: termo quadrático da equação.

A partir dos efeitos estimados, determinaram-se os coeficientes de regressão e a equação que prediz a concentração de CO₂ dissolvido nas amostras no final de período de estocagem, como apresentado na Equação (4):

$$CO_2 \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} = 4960,45 - 158,16x_2 \quad \text{Equação (4)}$$

Onde,

x₂: concentração de metabissulfito de sódio.

Através do cálculo da ANOVA, apresentado na Tabela 14, observou-se que a regressão foi significativa, porém com valor de F_{cal} apenas um pouco maior que o F_{tab} . A variação explicada para a concentração de CO_2 dissolvido foi ruim, com um valor de 27,70%, o que significa que apenas pouco mais de 27% dos resultados são explicados pela Equação (4), o que demonstra uma baixa influência da concentração dos conservantes estudados na retenção do gás.

Tabela 14 – Cálculo da ANOVA para a concentração de CO_2 dissolvido.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrados médios	F cal	F tab
Regressão	200105,26	1	200105	3,45	3,36
Resíduo	522317,47	9	58035		
Total	722422,73	10			

$R^2 = 27,70\%$

Nas Figuras 25 (a) e (b), são apresentas as superfícies de resposta e as curvas de contorno para a concentração de CO_2 dissolvido, observando-se apenas a influência do metabissulfito de sódio, dentro da faixa estudada, e que quanto menor a sua concentração, maior a quantidade do gás em solução. Como o metabissulfito age diminuindo o pH do meio, portanto quanto maior sua concentração, maior também será a ação anti-microbiana (MITCHELL, 1990).

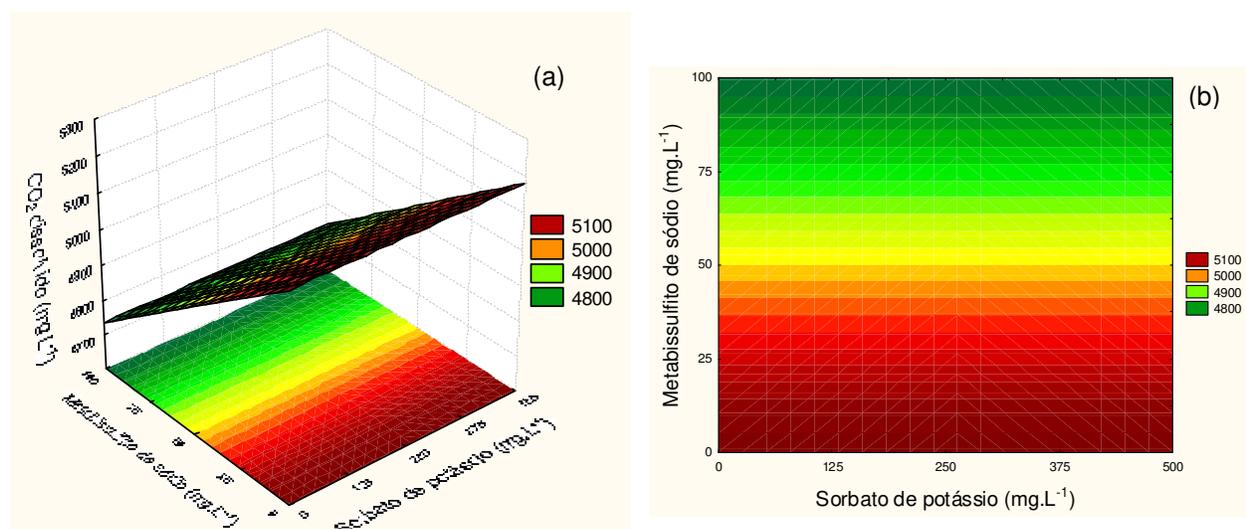


Figura 25 - Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) para a concentração de CO_2 dissolvido nas amostras, em função da concentração de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio.

Através do acompanhamento do teor de sólidos solúveis das amostras (Figura 26), observou-se que a amostra F apresentou grande variação durante a estocagem, chegando a um valor mínimo de 3,6° Brix no 56º dia. As amostras D e J também sofreram variações, atingindo o mínimo de 5,6 e 4,8° Brix, respectivamente. As amostras G, I e K apresentaram o mesmo comportamento, assim como as amostras do ponto central, L, M e N. Porém, a análise estatística dos dados não apresentou correlação entre a concentração dos conservantes sorbato de potássio e metabisulfito de sódio, dentro da faixa estudada, e a variação do teor de sólidos solúveis das amostras analisadas durante os 62 dias de estocagem, a um nível de significância de 10%.

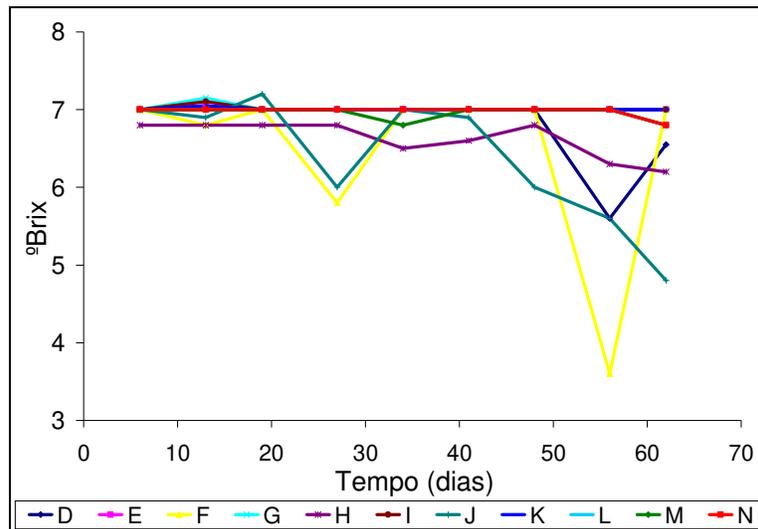


Figura 26 - Sólidos solúveis das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante a estocagem ambiente.

A acidez titulável de todas as amostras foi bastante inconstante durante o período de observação, como pode ser visto na Figura 27. Os valores variaram de um mínimo de 32,1 até o máximo de 53,6 mL de NaOH 0,1N/100mL entre as amostras H e D, respectivamente, sendo a amostra K a que apresentou menor variação.

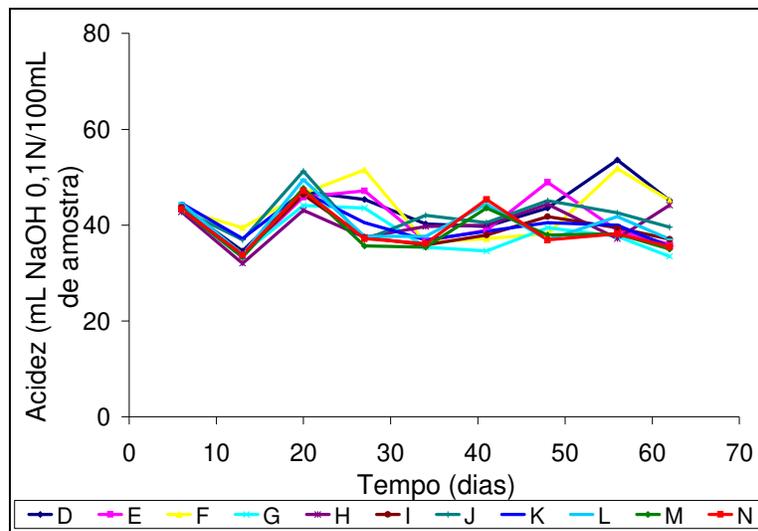


Figura 27 - Acidez titulável das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante a estocagem ambiente.

A análise estatística da acidez titulável revelou que apenas a concentração de sorbato de potássio (termos linear e quadrático) foi significativa a um nível de 10%. Na Tabela 15 são apresentados os efeitos estimados para o ajuste de segunda ordem para a acidez titulável, no final do período de 62 dias.

Tabela 15 - Efeitos estimados para um ajuste de segunda ordem, representando a relação entre a acidez titulável e as variáveis do processo.

	Efeito	Erro Padrão	t(5)	p-valor
Média	35,87	1,14	31,36	<0,00001
(1) x_1 (L)	-7,72	1,40	-5,51	0,00270
x_1 (Q)	5,18	1,67	3,11	0,02663
(2) x_2 (L)	-2,07	1,40	-1,48	0,19949
x_2 (Q)	2,13	1,67	1,28	0,25724
(1) x (2)	-1,27	1,98	-0,64	0,54974

Onde, x_1 : sorbato de potássio, x_2 : metabissulfito de sódio, L: termo linear da equação, Q: termo quadrático da equação.

Com base nos efeitos estimados, foi possível determinar os coeficientes de regressão e a equação que prediz a acidez titulável das amostras no final do período de estocagem, como apresentado na Equação (5):

$$\text{Acidez titulável (mL NaOH 0,1N / 100mL amostra)} = 36,88 - 3,86x_1 + 2,28x_1^2 \quad \text{Equação (5)}$$

Onde,

x_1 : concentração de sorbato de potássio.

Com o cálculo da ANOVA, apresentado na Tabela 16, pôde-se verificar que a regressão foi altamente significativa, pois apresentou F_{cal} bem maior que o F_{tab} . A variação explicada pela regressão também foi boa, acima de 80%.

Tabela 16 – Cálculo da ANOVA para a acidez titulável.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrados médios	F cal	F tab
Regressão	151,11	2	75,56	16,68	3,11
Resíduo	36,23	8	4,53		
Total	187,34	10			

$$R^2 = 80,66$$

Nas Figuras 28 (a) e (b), são apresentadas as superfícies de resposta e as curvas de contorno para a acidez titulável, nas quais se pode observar apenas a influência do sorbato de potássio, dentro da faixa estudada, e que quanto menor a sua concentração, maior a acidez desenvolvida pela amostra, ou seja, mais propício pode estar a amostra ao desenvolvimento de micro-organismos deterioradores.

A concentração de ácido ascórbico em todas as amostras diminuiu com o tempo, atingindo o mínimo de 105,5 mg.L⁻¹ na amostra H no final do período de estocagem, como pode ser visto na Figura 29. A perda do ácido ascórbico pode ter sido provocada pela oxidação do mesmo. Apesar da determinação de O₂ dissolvido de todas as amostras não apresentarem concentrações significativas do gás, O₂ pode penetrar através das paredes da embalagem provocando assim a oxidação do ácido ascórbico. O Ácido ascórbico também participa da reação de prevenção do escurecimento enzimático, como descrito no item 2.7. Castro (2005) afirmou que a degradação de ácido ascórbico também favoreceu o escurecimento não enzimático, podendo causar aparecimento de sabor estranho.

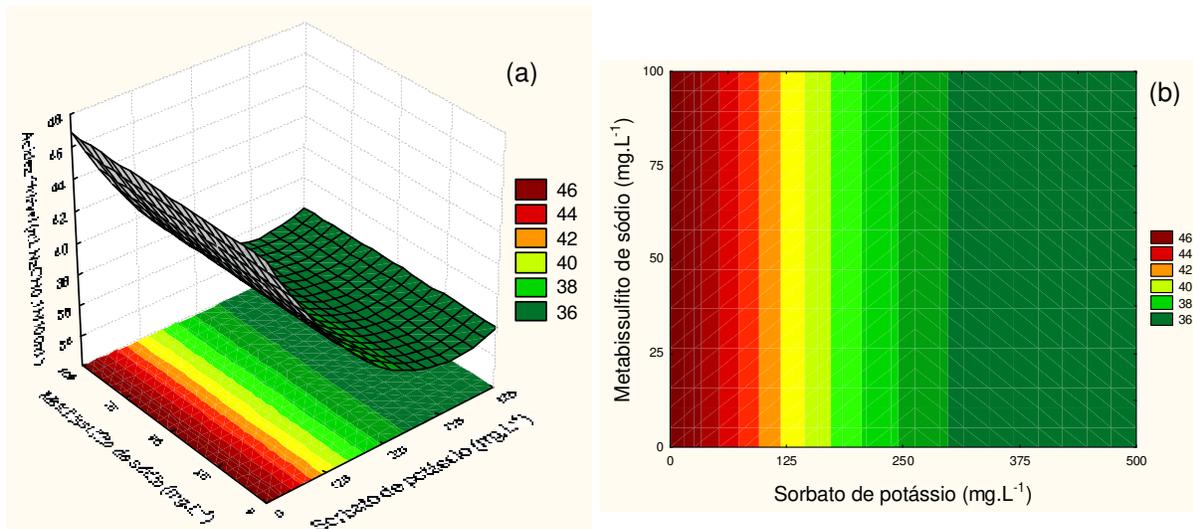


Figura 28 - Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) para a acidez titulável das amostras, em função da concentração de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio.

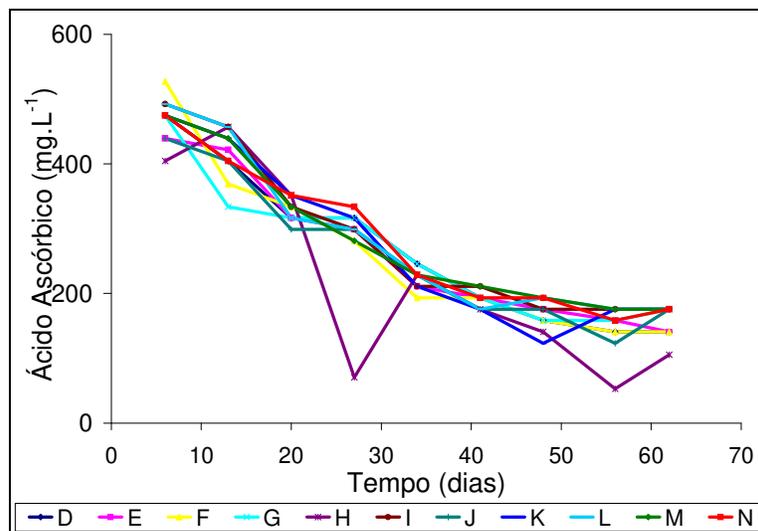


Figura 29 - Concentração de ácido ascórbico das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante estocagem ambiente.

A análise estatística das respostas obtidas para a concentração de ácido ascórbico revelou que apenas a concentração de sorbato de potássio (termos linear e quadrático), foi significativa (90% de confiança), quanto à perda do nutriente. Na Tabela 17 são apresentados os efeitos estimados para o ajuste de segunda ordem, para a concentração de ácido ascórbico.

Tabela 17 - Efeitos estimados para um ajuste de segunda ordem, representando a relação entre a concentração de ácido ascórbico e as variáveis do processo.

	Efeito	Erro Padrão	t(5)	p-valor
Média	175,75	7,42	23,70	0,00000
(1) x_1 (L)	33,64	9,08	3,70	0,01395
x_1 (Q)	-39,54	10,81	-3,66	0,01464
(2) x_2 (L)	8,79	9,08	0,97	0,37779
x_2 (Q)	-4,39	10,81	-0,41	0,70128
(1) x (2)	17,58	12,85	1,37	0,22957

Onde, x_1 : sorbato de potássio, x_2 : metabissulfito de sódio, L: termo linear da equação, Q: termo quadrático da equação.

Com base nos efeitos estimados, determinou-se os coeficientes de regressão e a equação que prediz a perda de ácido ascórbico das amostras, como apresentado na Equação (6):

$$\text{Ácido ascórbico (mg.L}^{-1}\text{)} = 173,68 + 16,82x_1 - 19,13x_1^2 \quad \text{Equação (6)}$$

Onde,

x_1 : concentração de sorbato de potássio.

Através do cálculo da ANOVA, apresentado na Tabela 18, verificou-se que a regressão foi significativa por apresentar F_{cal} maior que o F_{tab} . A variação explicada também foi expressiva, com valor de 77,47% dos resultados representados pela Equação (6).

Tabela 18 – Cálculo da ANOVA para a concentração de ácido ascórbico.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrados médios	F cal	F tab
Regressão	4524,88	2	2262,44	13,76	3,11
Resíduo	1315,77	8	164,47		
Total	5840,65	10			

$$R^2 = 77,47$$

Nas Figuras 30 (a) e (b) são apresentas as superfícies de resposta e as curvas de contorno para a concentração de ácido ascórbico, nas quais se verificou apenas a influência do sorbato de potássio, dentro da faixa estudada, e que quanto menor a sua concentração, menor também foi a concentração de ácido ascórbico na amostra.

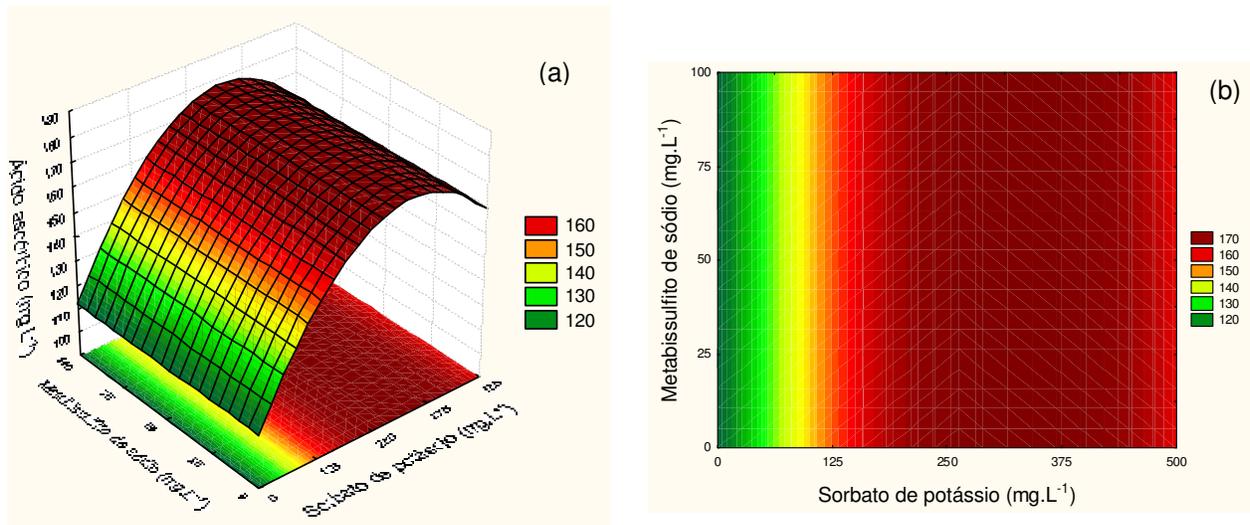


Figura 30 - Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) para a concentração de ácido ascórbico nas amostras, em função da concentração de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio.

Em relação à peroxidase, a maior parte das amostras não apresentou atividade durante o tempo de estocagem. Apenas as amostras D, E, F, I, L e M apresentaram alguma atividade durante o período, e o maior valor foi o da amostra E com $0,31 \text{ U.mL}^{-1}$ aos 62 dias, como apresentado na Figura 31, demonstrando a eficiência do tratamento em inibir a ação da enzima.

A análise estatística não apresentou correlação entre a concentração dos conservantes utilizados, dentro da faixa estudada, ao nível de significância de 10%.

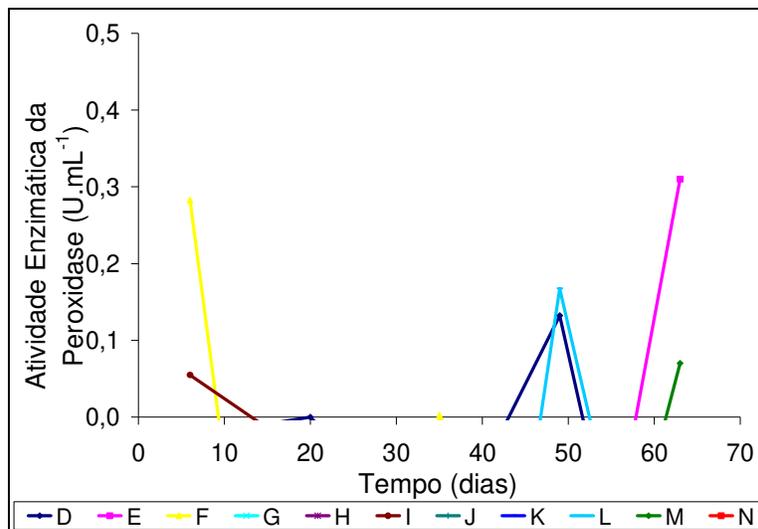


Figura 31 - Atividade enzimática da peroxidase das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante a estocagem ambiente.

Já para a enzima polifenoloxidase, todas as amostras apresentaram atividade enzimática. Novamente, para a amostra E foi observado o maior valor de atividade, atingindo $0,74 \text{ U.mL}^{-1}$ aos 62 dias. As amostras M e N apresentaram a menor atividade durante todo o período, como pode ser visto na Figura 32, representando a necessidade de ajustes do processamento aplicado, para uma melhor inativação da enzima.

A análise estatística dos resultados não apresentou correlação entre a concentração dos conservantes, e atividade da polifenoloxidase, com um nível de significância de 10%.

De modo geral, a luminosidade (Cor L^*) de todas as amostras diminuiu com o tempo (Figura 33), ou seja, ficaram mais escuras. A menor variação foi das amostras G, I, K, L, M e N e, o menor valor, ao final do período de observação, foi da amostra H, com 91,98. A análise estatística dos resultados aos 62 dias não apresentou correlação, ao nível de significância de 10%, entre a concentração dos conservantes, e luminosidade das amostras.

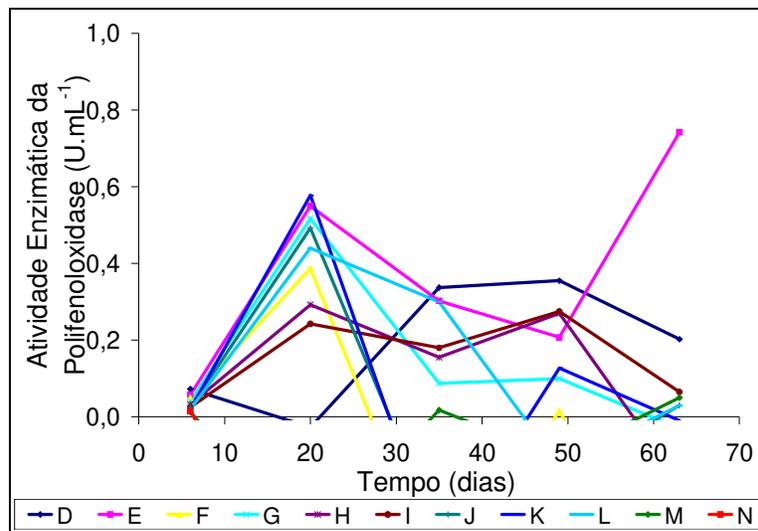


Figura 32 - Atividade enzimática da polifenoloxidase das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante a estocagem ambiente.

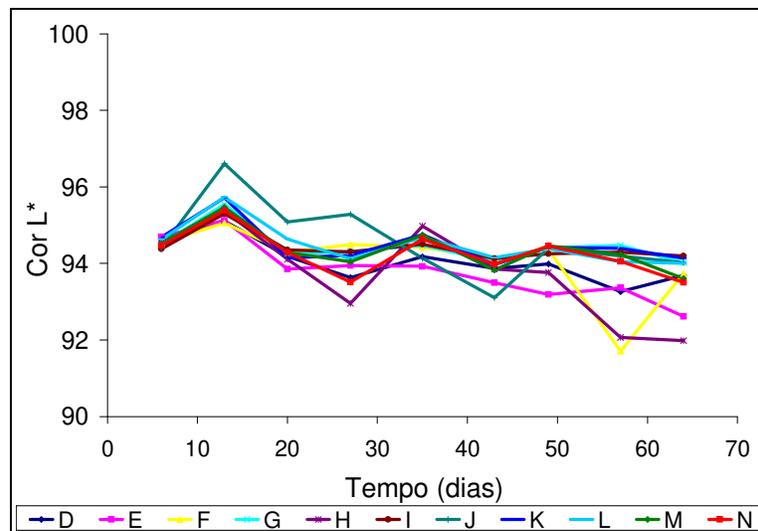


Figura 33 - Luminosidade das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante a estocagem ambiente.

Os resultados obtidos para a cor a^* foram bastante inconstantes para as amostras F, H e J. Essas três amostras também apresentaram alterações em outras análises, como no volume de carbonatação. A cor a^* da amostra E diminuiu bastante com o tempo, chegando a -1,32 ao final período. As demais amostras não apresentaram grandes variações, como pode ser observado na Figura 34. De modo geral, todas as amostras apresentaram valores negativos para esse parâmetro, o que significa a presença de tonalidade verde.

A verificação estatística dos resultados não apresentou correlação, ao nível de significância de 10%, entre a concentração dos conservantes, e a cor a^* das amostras ao final dos 62 dias de estocagem.

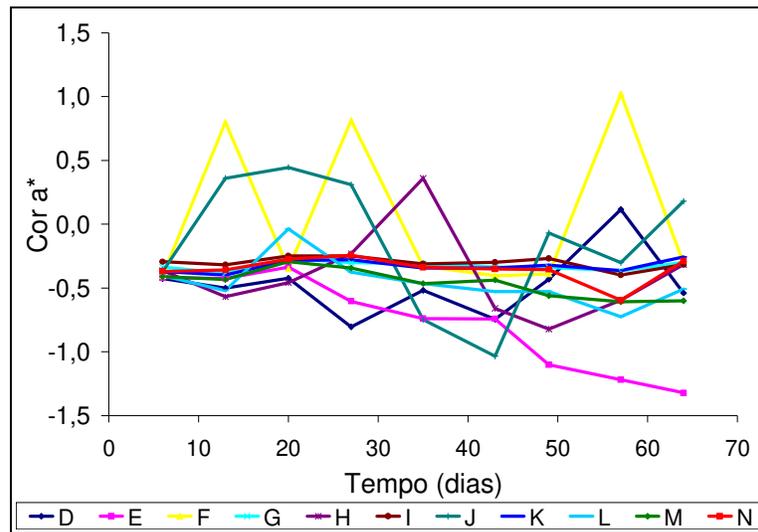


Figura 34 - Cor a^* das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante a estocagem ambiente.

Na avaliação da cor b^* , todas as amostras apresentaram valores positivos, o que significa presença da cor amarela. As amostras D, E, H e J sofreram elevação significativa do atributo, chegando a um valor máximo de aproximadamente 15,00, aos 62 dias. A amostra F apresentou comportamento inconstante, e as demais sofreram poucas alterações, como pode ser observado na Figura 35.

Na análise estatística dos resultados obtidos para o atributo cor b^* , a concentração dos dois conservantes foi significativa (termo linear e quadrático para o sorbato de potássio e termo linear para o metabissulfito de sódio), a um nível de 10%. Na Tabela 19 são apresentados os efeitos estimados para o ajuste de segunda ordem, para a cor b^* aos 62 dias.

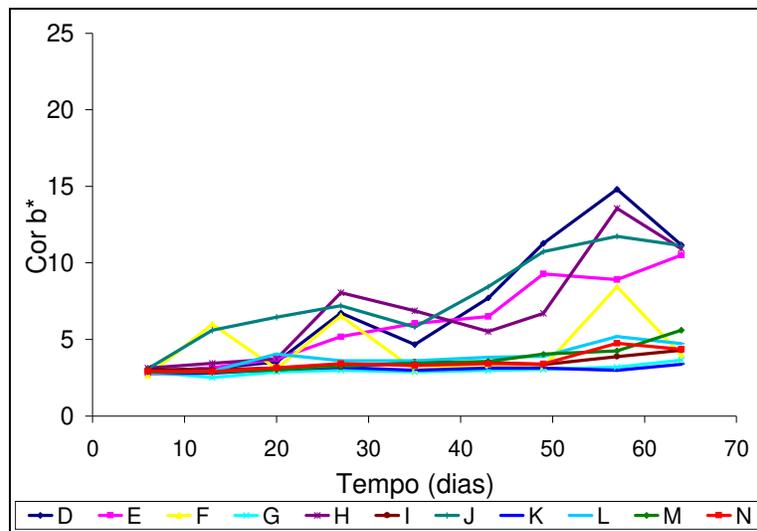


Figura 35 - Cor b* das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante estocagem ambiente.

Tabela 19 - Efeitos estimados para um ajuste de segunda ordem, representando a relação entre a cor b* e as variáveis do processo.

	Efeito	Erro Padrão	t(5)	p-valor
Média	4,89	0,85	5,76	0,00222
(1) x_1 (L)	-2,59	1,04	-2,49	0,05503
x_1 (Q)	2,66	1,24	2,15	0,08422
(2) x_2 (L)	-6,26	1,04	-6,01	0,00183
x_2 (Q)	2,31	1,24	1,87	0,12077
(1) x (2)	0,18	1,47	0,12	0,90745

Onde, x_1 : sorbato de potássio, x_2 : metabissulfito de sódio, L: termo linear da equação, Q: termo quadrático da equação.

Baseado nos efeitos estimados, os coeficientes de regressão e a equação que prediz a alteração da cor b* das amostras, puderam ser determinados, como apresentado na Equação (7):

$$Cor\ b^* = 5,98 - 1,30x_1 + 0,99x_1^2 - 3,13x_2 \quad \text{Equação (7)}$$

Onde,

x_1 : concentração de sorbato de potássio e x_2 : concentração de metabissulfito de sódio.

O cálculo da ANOVA, apresentado na Tabela 20, mostrou que a regressão foi significativa, pois apresentou F_{cal} maior que o F_{tab} . A análise também revelou uma boa variação explicada dos resultados de 84,14%.

Tabela 20 – Cálculo da ANOVA para a cor b^* .

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrados médios	F cal	F tab
Regressão	97,79	3	32,60	12,38	3,07
Resíduo	18,43	7	2,63		
Total	116,22	10			

$$R^2 = 84,14$$

Nas Figuras 36 (a) e (b), são apresentas as superfícies de resposta e as curvas de contorno para o atributo cor b^* , onde pode ser observado que nas concentrações mais baixas dos dois conservantes, a cor b^* foi maior, e que a menor alteração ocorreu nas faixas entre 200 a 500 $mg.L^{-1}$ de sorbato de potássio e de 90 a 100 $mg.L^{-1}$ de metabissulfito de sódio.

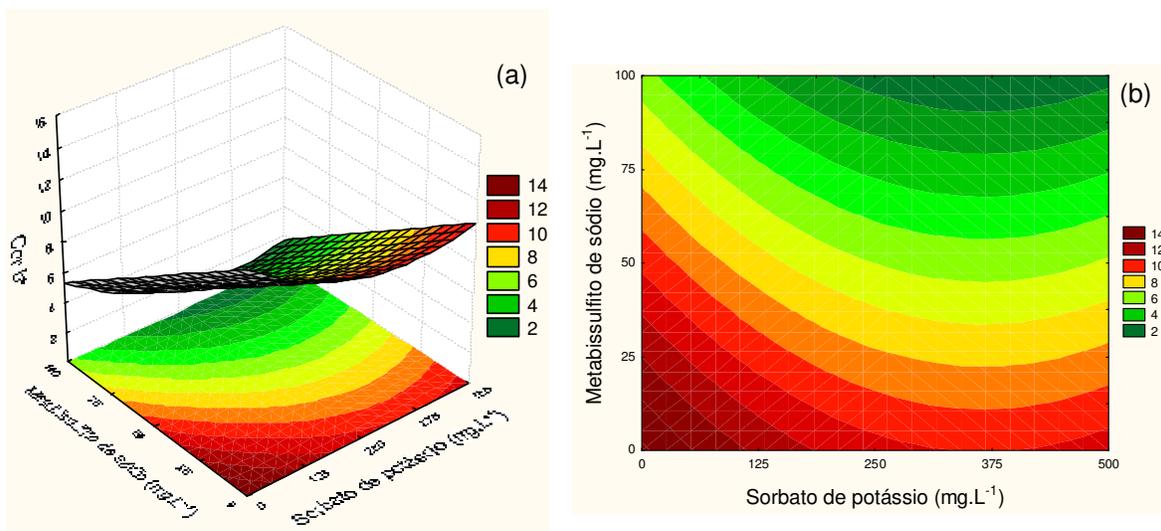


Figura 36 - Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) para a cor b^* das amostras, em função da concentração de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio.

A turbidez das amostras, de modo geral, foi bastante inconstante. Aos 43 dias, todas as amostras apresentaram um valor elevado de turbidez, com valores entre 60 e 65, o que pode ser atribuído a alguma falha de calibração do

equipamento utilizado. Ao final do período de observação, a amostra J apresentou a maior turbidez (83,7), seguida das amostras D e H, com 59,6 e 58,1, respectivamente. As demais amostras apresentaram variações entre 32,0 e 39,0, conforme Figura 37.

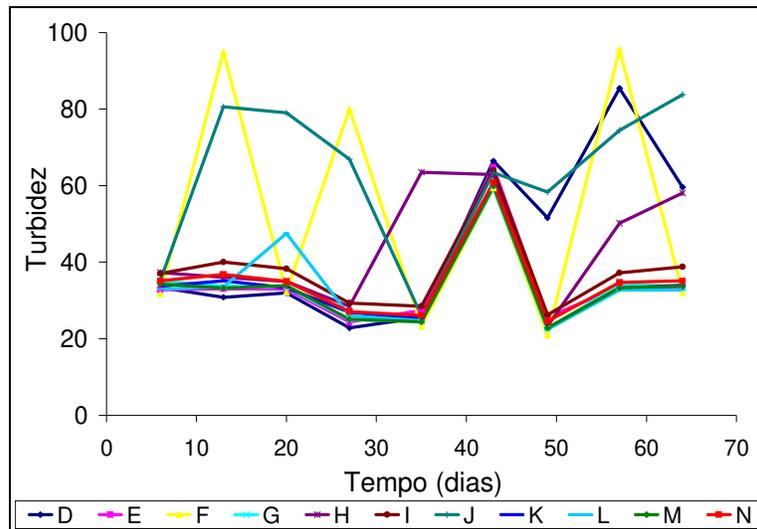


Figura 37 - Turbidez das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N durante estocagem ambiente.

Na análise estatística da turbidez, apenas a concentração de metabissulfito de sódio (termo linear) foi significativa, a um nível de 10%. Na Tabela 21 são apresentados os efeitos estimados para o ajuste de segunda ordem, para a turbidez aos 62 dias.

Tabela 21 - Efeitos estimados para um ajuste de segunda ordem, representando a relação entre a turbidez e as variáveis do processo.

	Efeito	Erro Padrão	t(5)	p-valor
Média	33,88	6,46	5,25	0,00333
(1) x_1 (L)	-12,95	7,91	-1,64	0,16246
x_1 (Q)	7,59	9,41	0,81	0,45684
(2) x_2 (L)	-24,40	7,91	-3,09	0,02730
x_2 (Q)	17,97	9,41	1,91	0,11448
(1) x (2)	13,89	11,18	1,24	0,26930

Onde, x_1 : sorbato de potássio, x_2 : metabissulfito de sódio, L: termo linear da equação, Q: termo quadrático da equação.

Os coeficientes de regressão e a equação que prediz a turbidez das amostras puderam ser determinados com base na estimativa dos efeitos, como apresentado na Equação (8):

$$\text{Turbidez} = 43,17 - 12,20x_2 \quad \text{Equação (8)}$$

Onde,

x_2 : concentração de metabissulfito de sódio.

A ANOVA para os resultados de turbidez, apresentada na Tabela 22, mostra que a regressão foi significativa, com valor de F_{cal} maior que o de F_{tab} . Já a variação explicada foi baixa (42,39%), o que pode ser explicado pela inconstância dos resultados durante todo o período de observação.

Tabela 22 – Cálculo da ANOVA para a turbidez.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrados médios	F cal	F tab
Regressão	1190,57	1	1190,57	6,62	3,36
Resíduo	1617,71	9	179,75		
Total	2808,28	10			

$R^2 = 42,39\%$

Nas Figuras 38 (a) e (b), são apresentadas as superfícies de resposta e as curvas de contorno para a turbidez, nas quais pode-se verificar que apenas o metabissulfito de sódio foi significativo, para alteração da turbidez das amostras, e que quanto menor sua concentração, maior a turbidez, o que também pode estar associado ao desenvolvimento de micro-organismos, pois a presença de material celular em suspensão provoca um impedimento da passagem de luz através da amostra.

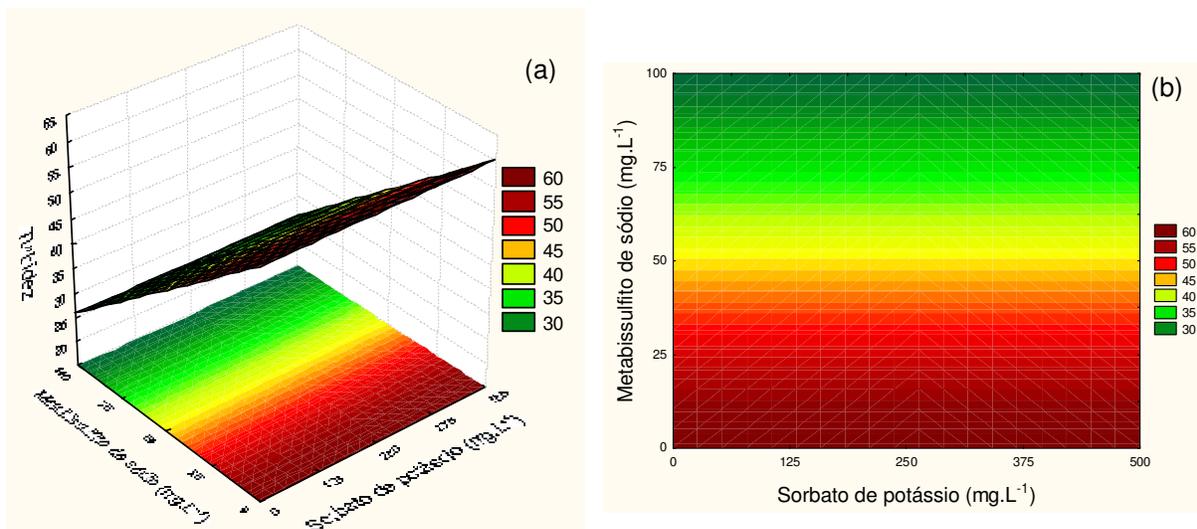


Figura 38 - Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) para a turbidez das amostras, em função da concentração de sorbato de potássio e metabisulfito de sódio.

A avaliação microbiológica das amostras foi realizada nos 30^o e 61^o dias de estocagem à temperatura ambiente, conforme Tabela 23.

Tabela 23 - Contagens total e de bolores e leveduras das amostras D, E, F, G, H, I, J, K, L, M e N, aos 30 e 61 dias de estocagem.

Amostra	30 dias		61 dias	
	Contagem total (UFC.mL ⁻¹)	Bolores e leveduras (UFC.mL ⁻¹)	Contagem total (UFC.mL ⁻¹)	Bolores e leveduras (UFC.mL ⁻¹)
D	1,6 · 10 ³	2,8 · 10 ⁴	5,0 · 10 ¹	9,2 · 10 ⁵
E	2,3 · 10 ³	1,0 · 10 ³	5,0 · 10 ¹	<1,0
F	5,0 · 10 ³	5,0 · 10 ³	<1,0	<1,0
G	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
H	2,9 · 10 ³	1,9 · 10 ⁵	5,8 · 10 ⁴	1,4 · 10 ⁶
I	<1,0	<1,0	<1,0	1,0 · 10 ⁰
J	5,0 · 10 ³	1,4 · 10 ⁵	5,9 · 10 ⁴	1,1 · 10 ⁶
K	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
L	<1,0	5,0 · 10 ²	<1,0	<1,0
M	5,0 · 10 ⁰	<1,0	<1,0	5,0 · 10 ¹
N	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0

As amostras D, E, F, H e J apresentaram contagem total de micro-organismos acima de três ciclos logarítmicos logo aos 30 dias de estocagem. As amostras D, E e F sofreram diminuição da contagem aos 61 dias, o que pode ser atribuído à entrada na fase de declínio do desenvolvimento microbiológico. Já as amostras H e J tiveram a contagem aumentada em um ciclo logarítmico ao final da observação. Com exceção da amostra E, as demais foram as que possuíam as menores concentrações de conservantes, e as amostras H e J só possuíam metabissulfito de sódio e sorbato de potássio, respectivamente, o que demonstra certo sinergismo entre os dois conservantes. As demais, não tiveram desenvolvimento significativo em nenhum período.

Na contagem de bolores e leveduras, as amostras D, E, F, H, J e L apresentaram contagem aos 30 dias de estocagem, sendo que H e J foram acima de cinco ciclos logarítmicos. Após 61 dias, apenas as amostras D, H e J apresentaram crescimento e, novamente, H e J com as maiores contagens (acima de seis ciclos), fato esse que vem a confirmar a eficácia da ação combinada entre os dois conservantes.

Nas Figuras 39 e 40 são apresentadas as amostras no final do período de observação. Foi possível verificar alteração de cor nas amostras D, E H e J e o estufamento das amostras F e H. Também, pode-se visualizar partículas em suspensão em todas as amostras, porém esse fator não descaracteriza o produto, pois a água de coco *in natura* pode possuir tal aparência, segundo a legislação brasileira (BRASIL, 2002).

No estudo realizado por Silva (2009), no qual se utilizou a mesma formulação desta pesquisa, porém com a aplicação dos conservantes sorbato de potássio e benzoato de sódio, ambos na concentração de 200 mg.L⁻¹, verificou-se em apenas 15 dias de estocagem à temperatura ambiente, um aumento do volume de carbonatação da amostra, de 4,15 para 5,57; diminuição do pH, de 4,37 para 3,59; elevação da cor b*, passando de 1,6 para 6,34; e um aumento expressivo da turbidez, de 13,95 para 70,16. Como não foi realizada uma avaliação microbiológica dessas amostras, foi atribuído que tais alterações foram devidas ao desenvolvimento de micro-organismos deteriorantes. Portanto, a

combinação sorbato de potássio e metabissulfito de sódio mostrou-se mais eficiente na prevenção das alterações físico-químicas e microbiológicas da água de coco carbonatada.



Figura 39 - Amostras D, E, F, G e H aos 62 dias de estocagem.



Figura 40 - Amostras I, J, K, L, M e N aos 62 dias de estocagem.

4.2.1 Conclusão

Através dos resultados apresentados, verificou-se que as amostras G, I e K sofreram as menores alterações no decorrer do estudo de estabilidade. Porém, essas continuam as maiores concentrações de conservantes, e todas com concentração total maior que aquela permitida pela legislação brasileira (BRASIL,

2007). Por isso, optou-se por realizar um terceiro processamento com dois experimentos, um com as concentrações de 260 e 40 mg.L⁻¹ de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio, respectivamente, atendendo ao máximo permitido pela legislação, e outro com 375 e 75 mg.L⁻¹ de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio, respectivamente, condizendo com os resultados obtidos através do planejamento experimental, isso é, menores alterações do volume de carbonatação, pH, concentração de CO₂ dissolvido, acidez titulável, concentração de ácido ascórbico, cor b* e turbidez.

4.3 Terceiro processamento

A caracterização da matéria-prima (água de coco *in natura*) e da água de coco após a padronização e tratamento térmico (sem adição de conservantes e carbonatação) mostrou que o processamento térmico em conjunto com a padronização e aditivção foi eficiente para diminuir o pH da amostra para um valor menor que 4,5, e diminuir substancialmente a atividade enzimática da peroxidase e polifenoloxidase. O processamento foi eficiente também na redução da contagem total de micro-organismos, como pode se observado na Tabela 24.

Tabela 24 - Caracterização da água de coco *in natura* e após padronização e tratamento térmico do terceiro processamento.

Atributo	Água de coco <i>in natura</i>	Água de coco processada
pH	5,13	4,49
Brix	4,6	7,0
Acidez (mL NaOH 0,1N/100mL)	8,10	18,00
Ácido ascórbico (mg.L ⁻¹)	31,73	213,62
Peroxidase (U.mL ⁻¹)	37,62	0,03
Polifenoloxidase (U.mL ⁻¹)	0,86	0,09
Cor L*	94,55	94,42
Cor a*	-0,30	-0,44
Cor b*	2,11	1,83
Turbidez	25,91	19,99
Contagem total (UFC.mL ⁻¹)	5,0 · 10 ²	<1,0
Contagem de bolores e leveduras (UFC.mL ⁻¹)	9,0 · 10 ⁰	1,0 · 10 ⁰

A adição dos conservantes químicos foi realizada após o tratamento térmico e antes da carbonatação, como apresentado na Tabela 25. Neste processamento, também se avaliou a influência da temperatura de estocagem. Metade das amostras foi estocada à temperatura ambiente (24 ± 2°C) e o restante sob temperatura controlada a 5°C.

Tabela 25 - Composição das amostras do terceiro processamento.

Ensaio	Sorbato de potássio (mg.L ⁻¹)	Metabissulfito de sódio (mg.L ⁻¹)
O	260	40
P	375	75

As amostras foram avaliadas por um período de 41 dias. A amostra O (ambiente) apresentou aumento expressivo do volume de carbonatação, logo aos 13 dias de estocagem, o que foi um indicativo do desenvolvimento de micro-organismos formadores de gases, uma vez que as demais amostras tiveram uma diminuição da carbonatação, provavelmente devido à perda do gás pela permeabilidade da garrafa, como pode ser visto na Figura 41.

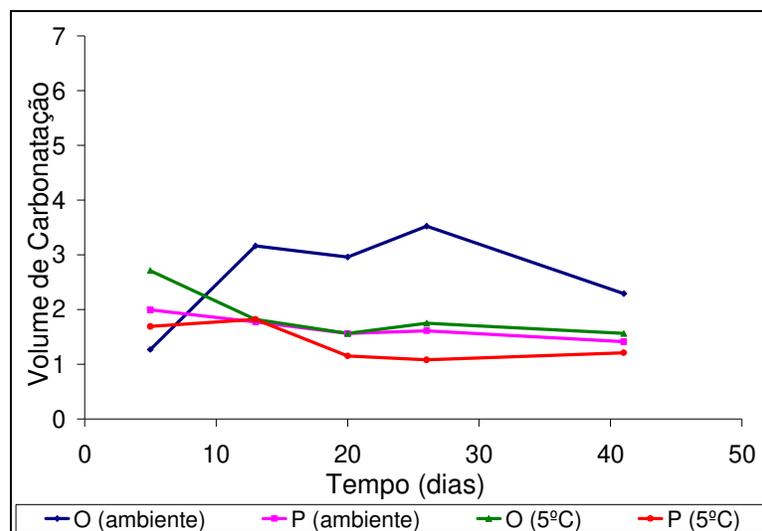


Figura 41 - Volume de carbonatação das amostras O e P durante estocagem ambiente e refrigerada.

A amostra O (ambiente) também apresentou um declínio extremo no pH, para 4,53, no início do período, e depois para 3,05, aos 41 dias. O pH das outras amostras também diminuiu, porém menos expressivo, atingindo mínimo de 4,26 no final da observação, como apresentado na Figura 42.

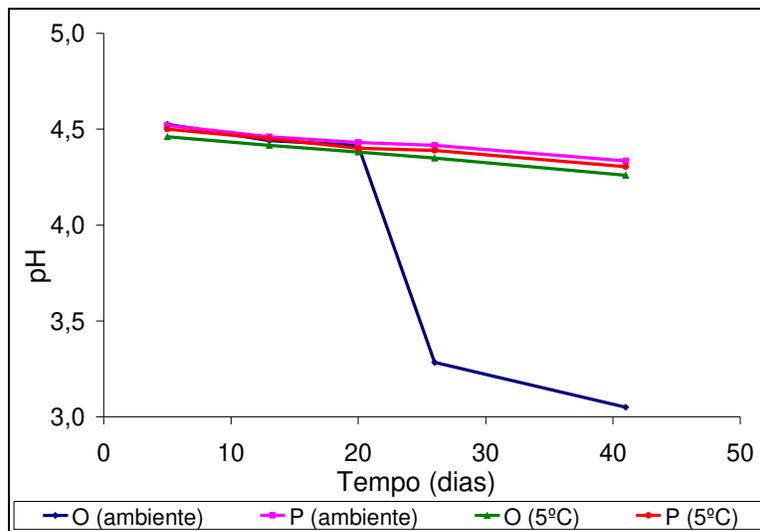


Figura 42 - pH das amostras O e P durante estocagem ambiente e refrigerada.

Na determinação dos sólidos solúveis, todas as amostras apresentaram pequena variação. A amostra O (ambiente) teve seu valor diminuído de 7,0 para 6,8 °Brix. As amostras P (ambientes) e P (5°C) tiveram o mesmo comportamento, como pode ser observado na Figura 43.

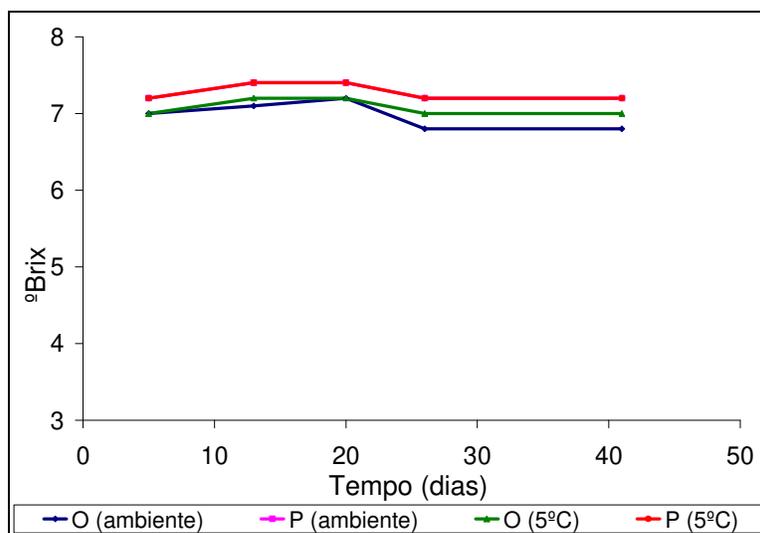


Figura 43 - Sólidos solúveis das amostras O e P durante a estocagem ambiente e refrigerada.

Nenhuma das amostras apresentou O₂ dissolvido em nenhuma etapa da observação. Já a concentração de CO₂ dissolvido aumentou para todas as amostras (Figura 44), atingindo um máximo de 6845 mg.L⁻¹ na amostra O (ambiente), aos 41 dias de estocagem.

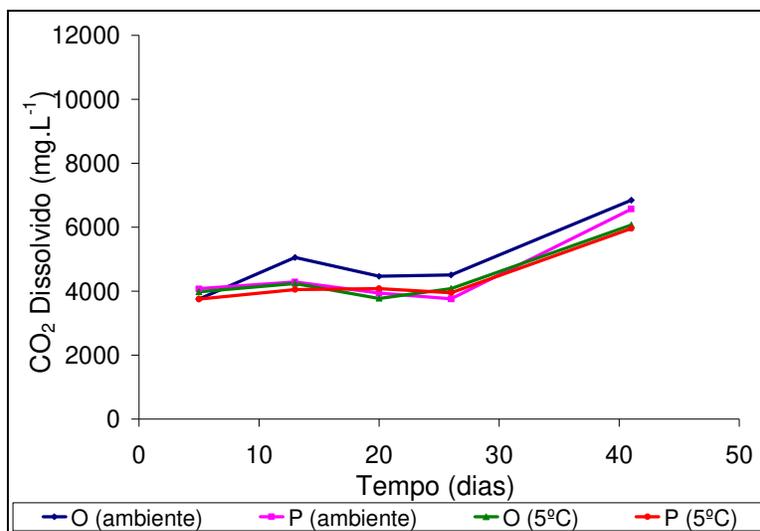


Figura 44 - Concentração de CO₂ dissolvido das amostras O e P durante a estocagem ambiente e refrigerada.

Foi observado ainda o elevado aumento da acidez titulável da amostra O (ambiente), o que condiz com a diminuição do pH da mesma, como apresentado anteriormente, representando mais um indicativo do desenvolvimento de micro-organismos. As amostras P (ambiente) e P (5°C) apresentaram ligeira diminuição da acidez, enquanto que O (5°C) permaneceu praticamente inalterada, como pode ser observado na Figura 45.

A concentração de ácido ascórbico não sofreu grandes alterações em todas as amostras, apresentando valores entre 169 a 264 mg.L⁻¹, como pode ser visto na Figura 46.

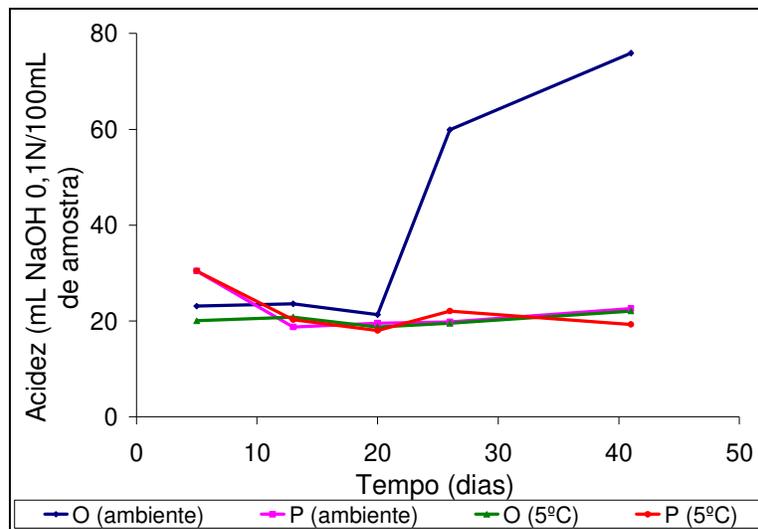


Figura 45 - Acidez titulável das amostras O e P durante estocagem ambiente e refrigerada.

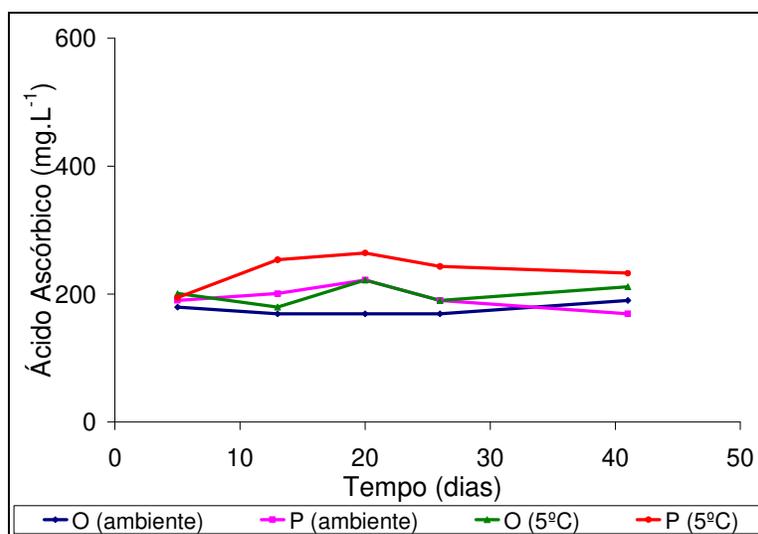


Figura 46 - Concentração de ácido ascórbico das amostras O e P durante estocagem ambiente e refrigerada.

Nas determinações das atividades enzimáticas da peroxidase e polifenoloxidase, foi observada apenas uma pequena regeneração da primeira enzima nas amostras P (ambiente) e P (5°C) de 0,22 e 0,07 U.mL⁻¹, respectivamente, aos 41 dias de estocagem.

Na avaliação dos parâmetros de cor, foi verificada uma pequena elevação da luminosidade das amostras aos 13 dias de observação. Porém, as amostras P

(ambiente), O (5°C) e P (5°C) apresentaram praticamente os mesmos valores, do início do período, ao final dos 41 dias. Já a amostra O (ambiente) sofreu diminuição do parâmetro, atingindo o valor 91,28, como apresentado na Figura 47.

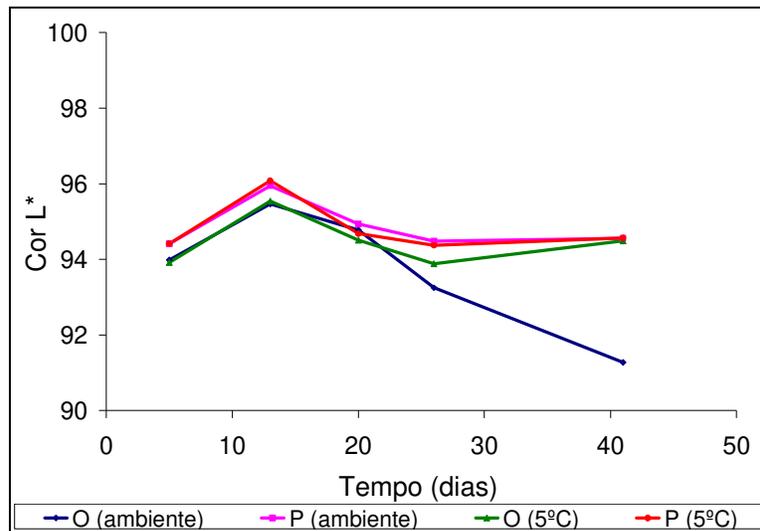


Figura 47 - Luminosidade das amostras O e P durante estocagem ambiente e refrigerada.

A amostra O (ambiente) sofreu, ainda, elevação no atributo da cor a^* , passando por um valor negativo (-0,56), no início do acompanhamento, para positivo (0,18), aos 41 dias, significando uma alteração de tom verde para vermelho. As demais amostras permaneceram quase inalteradas, sempre com valores negativos, em média -0,55, como pode ser observado na Figura 48.

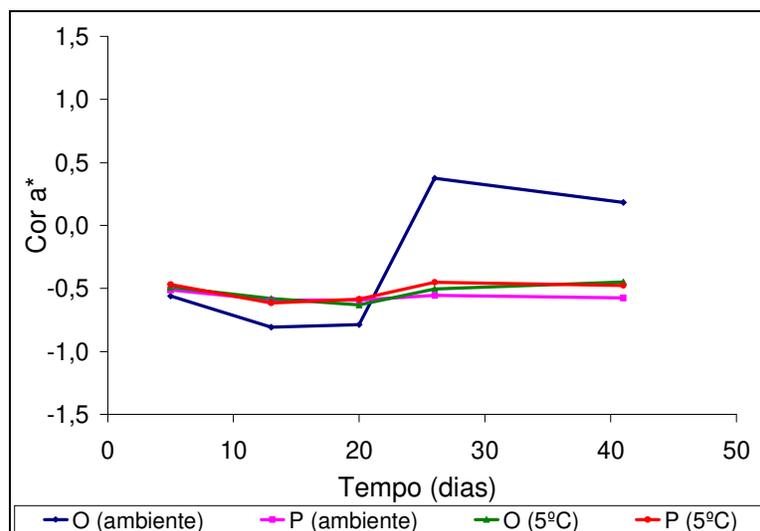


Figura 48 - Cor a^* das amostras O e P durante estocagem ambiente e refrigerada.

No parâmetro da cor b^* , o comportamento foi semelhante ao da cor a^* , onde apenas a amostra O (ambiente) sofreu alteração relevante (Figura 49). Não ocorreu alteração da tonalidade, mas o valor do parâmetro aumentou de 2,82 no início, para 9,13 no final do período, conferindo ao produto uma tonalidade amarela mais intensa.

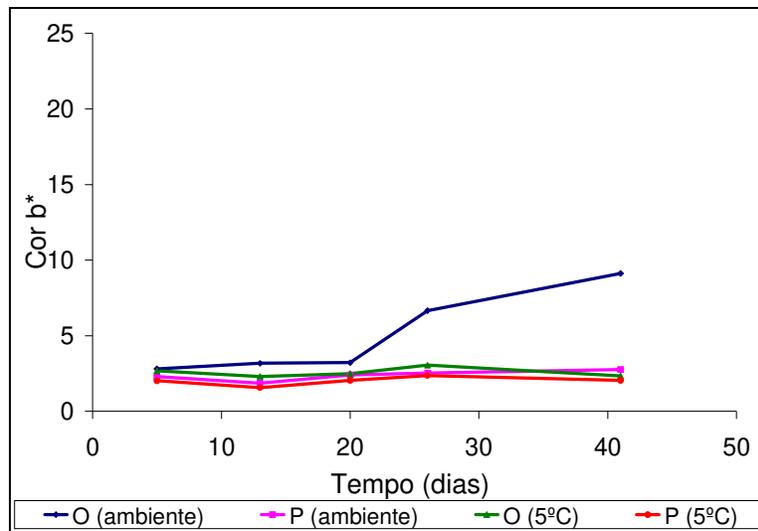


Figura 49 - Cor b^* das amostras O e P durante estocagem ambiente e refrigerada.

Em relação à turbidez, novamente, apenas a amostra O (ambiente) sofreu elevação do parâmetro, chegando a quase 80%, como pode ser verificado na Figura 50, representando mais uma característica do desenvolvimento de micro-organismos.

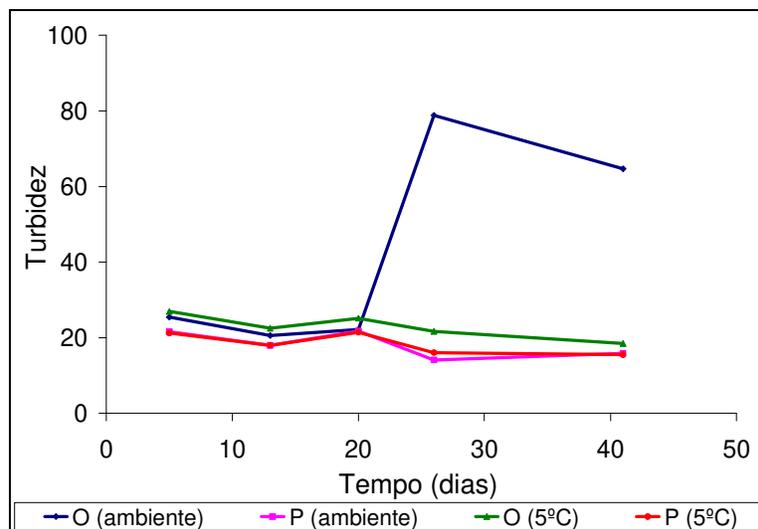


Figura 50 - Turbidez das amostras O e P durante estocagem ambiente e refrigerada.

A avaliação microbiológica das amostras foi realizada aos 20 dias de estocagem, e os resultados apenas vieram confirmar os obtidos através das análises físico-químicas, nas quais a amostra O (ambiente) foi a que sofreu maiores alterações. Na contagem total, esta amostra apresentou valor acima de oito ciclos logarítmicos sendo, portanto, imprópria para o consumo. Na contagem de bolores e leveduras, a maioria das amostras apresentou desenvolvimento acima de um ciclo, como pode ser observado na Tabela 26. Estudos realizados por Leber e Faria (2004), onde avaliaram as alterações microbiológicas em água de coco, sem aditivos químicos, acondicionadas em garrafas PET, foi verificado que o produto mantido entre 20 e 25°C apresentou vida de prateleira de apenas uma semana, e que a 10°C, foi possível a estocagem por até cinco meses.

Nessa pesquisa, supõe-se que tenha ocorrido contaminação das amostras durante a etapa de carbonatação, uma vez que a avaliação microbiológica realizada após a pasteurização, apresentada na Tabela 25, não revelou desenvolvimento de micro-organismos.

Tabela 26 - Contagens total e de bolores e leveduras das amostras O e P estocadas à temperatura ambiente e a 5°C, aos 20 dias de estocagem.

Amostra	Contagem total (UFC.mL⁻¹)	Bolores e leveduras (UFC.mL⁻¹)
O (ambiente)	$3,3 \cdot 10^8$	$2,3 \cdot 10^1$
P (ambiente)	$3,5 \cdot 10^0$	$1,0 \cdot 10^0$
O (5°C)	$1,0 \cdot 10^1$	$1,7 \cdot 10^1$
P (5°C)	$4,5 \cdot 10^2$	$5,0 \cdot 10^1$

Nas Figuras 51 e 52 são apresentadas as amostras no final do período de observação, nas quais se podem notar as alterações de cor e turbidez ocorridas na amostra O (ambiente), enquanto que as demais ficaram praticamente inalteradas.



Figura 51 - Amostras O e P armazenadas à temperatura ambiente aos 41 dias.



Figura 52 - Amostras O e P armazenadas a 5°C aos 41 dias.

4.3.1 Conclusão

De fato, ocorreu a contaminação das amostras do terceiro processamento, e pôde-se verificar que a concentração dos conservantes utilizada no processo O não foi suficiente para inibir o desenvolvimento microbiano, principalmente quando a amostra foi armazenada à temperatura ambiente. Portanto, os resultados desse processamento não foram válidos, uma vez que a contaminação pode ter influenciado fortemente nos resultados, principalmente pH, acidez e alterações nos parâmetros de cor.

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, verificou-se que a carbonatação da água de coco foi bastante eficaz na prevenção das alterações físico-químicas e microbiológicas da água de coco. Ela auxilia na substituição do oxigênio ambiente dissolvido no produto pelo CO₂, inibindo assim as alterações provocadas pelas reações enzimáticas e oxidação do ácido ascórbico.

Observou-se, também, que a adição dos conservantes sorbato de potássio e metabissulfito de sódio foi mais eficaz quando realizada após o tratamento térmico, e que existe ação sinérgica entre os dois agentes, uma vez que as menores alterações ocorreram nas amostras onde havia ambos.

No segundo processamento, através do planejamento experimental, verificou-se que as concentrações de 375 e 75 mg.L⁻¹ de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio, respectivamente, ofereceram menores alterações nas amostras, porém, tais quantidades estão em desacordo com a legislação brasileira. As concentrações de 260 e 40 mg.L⁻¹ de sorbato de potássio e metabissulfito de sódio, também proporcionaram boa qualidade à água de coco carbonatada, podendo ser estocada por 60 dias à temperatura ambiente, entretanto, isso não pôde ser verificado devido à contaminação microbiológica ocorrida no terceiro processamento, o que tornou também impossível uma avaliação sensorial do produto.

Por fim, recomenda-se uma nova avaliação da concentração dos conservantes sorbato de potássio e metabissulfito de sódio, assim como experimentar novas combinações, a fim de se obter um produto carbonatado com a devida qualidade comercial. Recomenda-se ainda melhorias no sistema de carbonatação, como resfriamento da amostra e controle na injeção do gás a fim de se obter um produto final com volume de carbonatação mais homogêneo.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIR – Associação Brasileira de Refrigerantes e Bebidas Não Alcoólicas.
Disponível em <<http://www.abir.org.br>>. Acesso em 06 de Janeiro de 2010.

ABREU, L. F.; FARIA, J. A. F. Influência da Temperatura e do Ácido Ascórbico sobre a Estabilidade Físico-química e Atividade Enzimática de Água de Coco (*Cocos nucifera* L.) Acondicionada Assepticamente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 226-32, 2007.

ABREU, L. F. **Avaliação e Adaptação de Sistema Asséptico para Obtenção de Água de Coco (*Cocos nucifera* L.) Acondicionada em Embalagens Plásticas**. 2005. 219 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16 ed.
Gaithersburg, 1997.

ARAGÃO, W. M. **A Cultura do Coqueiro**. Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2007. Disponível em <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Coco/ACulturadoCoqueiro.htm>>. Acesso em 13 de Outubro de 2009.

ATKINS, P.; JONES L. **Princípios de Química**: Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente. Porto Alegre: Bookman, 2001. 721p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 5, de 15 de janeiro de 2007. Aprova o regulamento técnico sobre uso de aditivos em bebidas não alcoólicas carbonatadas e não carbonatadas. Diário Oficial da União, de 21 de agosto de 2006. Disponível em <https://anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/05_170107rdc.htm>. Acesso em 13 de Dezembro de 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 39, de 28 de maio de 2002. Aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade da água de coco. **Diário Oficial da União**, de 29 de Maio de 2002. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 13 de Dezembro de 2008.

CAMPOS, C. F.; SOUZA, P. E. A.; COELHO, J. F.; GLÓRIA, M. B. A. Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation of flavor quality of green coconut water. **Journal of Food Processing and Preservation**, Malden, n. 20, p. 487-500, 1996.

CASTRO, M. R. S. Cinética de Degradação do Ácido Ascórbico em Polpas de Frutas Congeladas *In Natura*. 2005. 97 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2005.

DOSUALDO, G. L. **Efeito do Processo de Homogeneização a Ultra Alta Pressão na Redução da Carga Microbiana e da Atividade Enzimática da Água de Coco**. 2007. 112 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

DUARTE, A. C. P.; COELHO, M. A. Z.; LEITE, S. G. F. Identification of Peroxidase and Tyrosinase in Green Coconut Water. **Ciencia y Tecnología Alimentaria**, Reynosa, v. 3, n. 5, p. 266-70, 2002.

FARIA, J. A. F. Professor Titular do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp. **Extrator de água de coco**. Campinas: Unicamp, 2003.

FARIA, J. A. F. Professor Titular do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp. **Carbonatador de bebidas**. Campinas: Unicamp, 2007.

- FARIA, J. A. F. **Aplicações da Fibra de Coco Verde como Material de Acolchoamento em Sistemas de Embalagens para Frutas**. Projeto em Execução – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.
- FONTES, H. R.; WANDERLEY, M. **Situação Atual e Perspectivas para a Cultura do Coqueiro no Brasil**. Aracajú: Embrapa, 2006.
- FREITAS, A. A. de; FRANCELIN, M. F.; HIRATA, G. F.; CLEMENTE, E.; SCHMIDT, F. L. Atividades das Enzimas Peroxidase (POD) e Polifenoloxidase (PPO) nas Uvas das Cultivares Benitaka e Rubi e em seus Sucos e Geléias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28 ,n. 1, p. 172-7, 2008.
- GARCIA-GONZALEZ, L.; GEERAERD, A. H.; SPILIMBERGO, S.; ELST, K.; VAN GINNEKEN, L.; DEBEVERE, J.; VAN IMPE, J. F.; DEVLIEGHERE, F. High Pressure Carbon Dioxide Inactivation of Microorganisms in Food: The Past, the Present and the Future. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 117, p. 1-28, 2007.
- GILES, G. A. **Handbook of Beverage Packaging**. London: CRC Press, 1999. 397 p.
- GORDON, L. R. **Food Packaging: Principles and Practice**. New York: Marcel Dekker, INC, 1993. 676 p.
- GUERRERO-BELTRÁN, J. A.; SWANSON, B. G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Inhibition of Polyphenoloxidase in Mango Puree with 4-Hexylresorcinol, Cysteine and Ascorbic Acid. **LWT – Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 38, n. 6, p. 625-30, 2005.
- LEBER, A. S. L.; FARIA, J. A. F. Alterações Microbiológicas em Água de Coco (*Cocos nucifera* L) Acondicionada em Garrafas Plásticas. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 119, p. 55-8, 2004.

MACIEL, M. I.; OLIVEIRA, S. L.; SILVA, I. P. Effects of Different Storage Conditions on Preservation of Coconut (*Cocos nucifera*) water. **Journal of Food Process and Preservation**, n. 16, p. 13-22, 1992.

MAGA, J. A.; TU, A. T. **Food Additive Toxicology**. New York: Marcel Dekker, INC, 1994. 542 p.

MAGDA, R. R. Coco Soft Drink: Health Beverage from Coconut Water. **Food Marketing and Technology**, Noremberg, v.6, n.6, p.22-3, 1992.

MATSUI, K. N., GRANADO, L. M., OLIVEIRA, P. V. de, TADINI, C. C. Peroxidase and Polyphenol Oxidase Thermal Inactivation by Microwaves in Green Coconut Water Simulated Solutions. **LWT – Food Science and Technology**, Amsterdam, v.40, p. 852-9, 2007.

MEDINA, J. C.; GARCIA, J. L.M.; MARTIN, Z. J.; KATO, K.; TERUO, P.; TURATTI, J. M.; SANTOS, L. C.; SILVA, M. T. C.; CANTO, W. L.; NETO, L. de C. B.; MORETTI, V. A. **Coco: da Cultura ao Processamento e Comercialização**. Série Frutas Tropicais. Campinas: ITAL, 1980.

MITCHELL, Alan J.. **Formulation and Production of Carbonated Soft Drinks**. New York: Blackie And Son Ltd, 1990. 361 p.

MORORÓ, R. C. **Industrialização do Coco**. Viçosa: CPT, 1998. 60 p.

MURPHY, C. Carbonation – the Science of the Bubbles, **Food Processing**, p. 16-17, April, 1997.

QUEIROZ, C.; MENDES, M. L. L.; FIALHO, E.; VALENTE-MESQUITA, V. L. Polyphenol Oxidase: Characteristics and Mechanisms of Browning Control. **Food Reviews International**, Philadelphia, v. 24, n.4, p. 361-75, 2008.

ROSA, M. de F.; ABREU, F. A. P de. **Água de Coco: Métodos de Conservação**. Fortaleza: Embrapa – CNPAT/SEBRAE/CE, 2000. 40 p.

RUSSEL, N. J. ; GOULD, G. W. **Food Preservatives**. 2 ed. New York: Kluwer Academic, 2003. 380 p.

SCHMIDT, F. L.; CASTRO, M. F. P. M. de; GUMERATO, H. F.; LEITÃO, M. F. de F. Boas Práticas de Fabricação e Aplicação da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle no Processamento de Água de Coco. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 121, p. 65-76, 2004.

SENHORAS, E. M. Oportunidades da Cadeia Agroindustrial do Coco Verde: Do Coco Verde Nada se Perde, Tudo se Desfruta. **Revista Urutágua**, Maringá, n. 5, 2004. Disponível em <http://www.urutagua.uem.br/005/22eco_senhoras.htm>. Acesso em 29/09/2009.

SHACHMAN, Maurice. **The Soft Drinks Companion: A Technical Handbook for the Beverage Industry**. Boca Raton: Crc Press, 2005. 260 p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos**. Campinas: Editora Varela, 2001. 317p.

SILVA, M. C. Avaliação de Processo de Carbonatação de Água de Coco (*Cocus nucifera* L.). 2009. 129 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

SOUZA, C. R. **Avaliação do Processo de Produção de Água de Coco (*Cocus nucifera*) por Ultrafiltração e Envase Asséptico em Garrafas de Vidro**. 2006. 159 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

SOUZA, A. C. M. de; COSTA, J. M. C. da; SANTOS, K. M. dos; ANDRADE, S. A. C.; HOLLAND, N. Caracterização Química de Águas de Coco de Três Variedades. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 21, n. 157, p. 123-7, 2007.

SREBERNICH, S. M. **Caracterização física e química da água de fruto de coco (Cocos nucifera), variedades gigante e híbrido PB-121, visando o desenvolvimento de uma bebida com características próximas às da água de coco**. 1998. 212 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

TAVARES, M.; CAMPOS, N.C.; NAGATO, L.A.F.; LAMARDO, L.C.A.; INOMATA, E.L.; CARVALHO, M.F.H.; ARAGÃO, W. M. **Estudo da Composição Química da Água de Coco-Anão Verde em Diferentes Estágios de Maturação**. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 16., 1998, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: SBCTA, 1998. CD-ROM.

TOCCHINI, R. **Água de Coco**. Campinas: ITAL, 1998.

TOCCHINI, R.P.; NISIDA, A.L.A.C. **Industrialização de refrigerantes**. Campinas: ITAL, 1995. 51 p.

TORALLES, R. P.; VENDRUSCOLO, J. L.; VENDRUSCOLO, C. T.; DEL PINO, F. A. B.; ANTUNES, P. L. Determinação das Constantes Cinéticas de Degradação do Ácido Ascórbico em Purê de Pêssego: Efeito da Temperatura e Concentração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.1, p.18-23, 2008.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Beverages Technology**, Chemistry and Microbiology Food Product Series. London: Chapman & Hall, v.2, 1994. 92 p.

WOSIACKI, G.; DEMIATE, J.; MELO, F. Nata de Coco – O Estado da Arte. **Boletim da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n.2, p.142-155, 1996.