

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos

VIVIAN CRISTINA ITO

**EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA DURANTE O ARMAZENAMENTO DA FARINHA DE
BAGAÇO DE MAÇÃ**

PONTA GROSSA

2015

VIVIAN CRISTINA ITO

**EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA DURANTE O ARMAZENAMENTO DA FARINHA DE
BAGAÇO DE MAÇÃ**

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Gilvan Wosiacki

PONTA GROSSA

2015

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

I89 Ito, Vivian Cristina
Efeitos da radiação gama durante o
armazenamento da farinha de bagaço de
maçã/ Vivian Cristina Ito. Ponta Grossa,
2015.
112f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e
Tecnologia de Alimentos - Área de
Concentração: Ciências e Tecnologia de
Alimentos), Universidade Estadual de Ponta
Grossa.
Orientador: Prof. Dr. Gilvan Wosiacki.

1.Antioxidantes. 2.Fitoquímicos.
3.Irradiação. 4.Estabilidade. 5.Análise
multivariada. I.Wosiacki, Gilvan. II.
Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Mestrado em Ciência e Tecnologia de
Alimentos. III. T.

CDD: 664

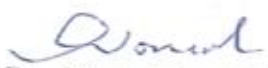
TERMO DE APROVAÇÃO

VIVIAN CRISTINA ITO

**EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA DURANTE O ARMAZENAMENTO
DA FARINHA DE BAGAÇO DE MAÇÃ**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientador:


Prof. Dr. Gilvan Wosaicki – UEPG


Profa. Dra. Maria Helene Giovanetti Canteri – UEPG


Profa. Dra. Marta Helena Fillet Spoto – USP/ESALQ

Ponta Grossa, 13 de fevereiro de 2015.

Dedicatória:

Ao meu marido e melhor amigo Giovane, pela cumplicidade, paciência e otimismo, sempre ao meu lado para encarar os desafios da vida.

A minha mãe, exemplo de mulher batalhadora, honesta, pelo apoio e incentivo em minhas decisões.

AGRADECIMENTOS

A DEUS,

Por sempre me dar fé, força, dedicação e esperança;

Por ter uma família maravilhosa que me apoia incondicionalmente em todos os momentos;

Por colocar na minha vida, uma pessoa inigualável, meu ilustre Orientador e Professor Gilvan Wosiacki, ser provido de uma imensa sabedoria, transmite seus conhecimentos de forma muito especial, sempre querido e disposto a ajudar em tudo e a todos que estão ao seu redor;

Por conviver com a Suelen Avila, amiga, parceira e “irmã caçula”, por compartilhar esses dois anos de bons momentos, alegrias e frustrações oriundas dessa magnífica área que escolhemos: a pesquisa científica;

Pela oportunidade de conhecer pessoas que me ajudaram durante esse período:

A Professora Marta Spotto, por aceitar a parceria do nosso projeto com a irradiação, bem como participar da banca de defesa.

As Professoras Maria Helene Canteri e Ana Claudia Barana por participarem das bancas de defesa do projeto e qualificação, com importantes contribuições.

A Juliane Souza, querida amiga e sempre prestativa.

As colegas Laíse e Simone Lazzarotto que me ajudaram nas análises termogravimétricas, assim como o Professor Egon, nas interpretações das curvas de TG e micrografias.

A sempre sorridente Denise Mendes, técnica do laboratório de Engenharia de Alimentos que auxiliou nas análises físico-químicas e microbiológicas.

Ao simpático Milton, do Departamento de Engenharia de Materiais, que realizou as análises de MEV.

A Aline Alberti, do GTM, com as análises de HPLC.

Ao Laboratório multiusuário – Labmu, por disponibilizar equipamentos para algumas análises instrumentais.

Enfim, todas as pessoas que estiveram presentes nesta caminhada, trocando idéias e ideais...

MUITO OBRIGADA!!!!

RESUMO

A maçã é uma fruta muito popular devido ao seu aroma, sabor e visual atrativo, seu consumo está relacionado a vários benefícios a saúde humana. Com a industrialização, é gerado um resíduo da extração do suco, o bagaço de maçã, com características similares de nutrientes e compostos bioativos que a fruta. Esse bagaço quando estabilizado se torna um subproduto com excelentes aplicações biotecnológicas. Os efeitos positivos da irradiação em alimentos tem sido exploratório, principalmente no aumento do tempo de vida útil do produto. Este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da radiação gama nas características físico-químicas, termogravimétricas, microestruturais e microbiológicas, compostos fenólicos e potencial antioxidante da farinha de bagaço de maçã, durante nove meses de armazenamento, com auxílio de técnicas multivariadas, como a Análise de Componentes Principais (PCA) e a Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA). A radiação gama e o período de armazenamento não influenciaram nos parâmetros de lipídeos, sacarose, frutose e cinzas. Os açúcares redutores não foram influenciados pela irradiação e com a dose de 1 kGy se manteve estável durante o período de armazenamento. A glucose se manteve estável a partir do terceiro mês, e os maiores teores foram encontrados com a dose de 2 kGy. O mineral cálcio apresentou maiores teores nas amostras irradiadas. Os teores de fibra alimentar nas amostras irradiadas resultam em menores valores comparadas a amostra controle, mas continuaram dentro dos índices encontrados na literatura. As amostras irradiadas durante o armazenamento foram estáveis para os teores de proteína, lipídeos, fibra alimentar, açúcar redutor total, os minerais K, Zn, Fe e Mn. A floredizina foi o composto fenólico que manteve teores constantes durante a pesquisa. O ácido clorogênico e a sua classe de ácidos hidroxicinâmicos aumentaram proporcionalmente com o tempo nas amostras irradiadas. A abordagem quimiométrica se mostrou eficaz ao facilitar a visualização das amostras da farinha de bagaço de maçã, nos parâmetros físico-químicos e através da HCA, os compostos fenólicos foram separados em 3 grupos, o primeiro caracterizado por apresentar apenas as amostras sem irradiação, o segundo, amostras com 2 kGy e o terceiro caracterizou-se por representar a dose de 1 kGy. As curvas de termogravimetria apresentam quatro perdas principais de massa, em reações consecutivas. Com as fotomicrografias, observou-se um material de composição orgânica, bem heterogêneo, com aglomerados de partículas que apresentam formas e tamanhos irregulares. Do ponto de vista microbiológico a dose de 2 kGy foi letal para a inibição de bolores e leveduras ao término da pesquisa. Essa matéria prima é uma ótima fonte de fibras e pode ser aplicada em produtos com alto valor agregado, visando economia e reduzindo o impacto ambiental.

Palavras-chave: Antioxidantes, fitoquímicos, irradiação, estabilidade, análise multivariada.

ABSTRACT

The apple is a very popular fruit because of its aroma, flavor and attractive look, its consumption is related to several benefits to human health. With industrialization, a residue of juice extraction is generated, the apple pomace, with similar characteristics of nutrients and bioactive compounds that fruit. This apple pomace after stabilization becomes a by-product with excellent biotechnological applications. The positive effects of irradiation in food has been exploration, especially in increasing the useful life of the product. This study aimed to evaluate the effects of gamma radiation on the physicochemical characteristics, thermogravimetric, microstructural and microbiological, phenolic compounds and antioxidant potential of apple cake meal, for nine months of storage, with the help of multivariate techniques such as analysis Principal Components (PCA) and Hierarchical Cluster Analysis (HCA). Gamma radiation and the storage period did not influence the parameters of lipid, sucrose, fructose and ashes. Reducing sugars were not affected by the irradiation and the dose of 1 kGy remained stable during the storage period. The glucose was stable from the third month, and the highest levels were found at a dose of 2 kGy. The mineral calcium levels were higher in the irradiated samples. The dietary fiber content of the irradiated samples resulted in lower values compared to the control sample, but remained within the contents found in the literature. The irradiated samples were stable during storage for protein, lipid, dietary fiber, total reducing sugar, minerals K, Zn, Fe and Mn. The Phlorizin was the phenolic compound that remained constant levels during the search. Chlorogenic acid and its class hydroxycinnamic acids increased proportionally with time in the irradiated samples. The chemometric approach is effective to facilitate the visualization of samples of apple cake meal, the physical-chemical parameters and by HCA, the phenolic compounds were separated into three groups, the first characterized in that only samples without irradiation, the Then, samples with 2 kGy and third represent characterized by a dose of 1 kGy. Thermogravimetry curves with four major mass loss in consecutive reactions. In the photomicrographs, there was an organic material composition and heterogeneous, with agglomerates of particles which have irregular shapes and sizes. From a microbiological point of view the dose of 2 kGy was lethal to the inhibition of yeasts and molds to the end of the study. This raw material is a great source of fiber and can be applied to products with high added value, aiming economy and reducing the environmental impact.

Keywords: antioxidants, phytochemicals, irradiation, stability, multivariate analysis.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1: “Radura” símbolo internacional para identificar alimentos irradiados	36
---	----

CAPÍTULO II

Figura 1: Análise Hierárquica de Agrupamentos aplicada as amostras de FBM durante o período de armazenamento de acordo com suas características físico-químicas	69
--	----

Figura 2: Gráficos de escores da PC1 x PC2 das amostras de FBM em relação as análises físico-químicas durante o período de armazenamento. Amostras: 1 (0 kGy – 0 meses), 2 (1 kGy – 0 meses), 3 (2 kGy – 0 meses), 4 (0 kGy – 3 meses), 5 (1 kGy – 3 meses), 6 (2kGy – 3 meses), 7 (0 kGy – 6 meses), 8 (1 kGy – 6 meses), 9 (2 kGy – 6 meses), 10 (0 kGy – 9 meses), 11 (1 kGy – 9 meses), 12 (2 kGy – 9 meses)	71
---	----

Figura 3: Curvas TG e DTA das amostras da FBM. Lado esquerdo amostras analisadas na fase inicial, lado direito amostras analisadas na fase final. Onde: 0 kGy - 0m (amostra controle – 0 meses); 0 kGy - 9m (amostra controle – 9 meses); 1 kGy - 0m (amostra com dose de 1kGy – 0 meses); 1 kGy - 9m (amostra com dose de 1 kGy – 9 meses); 2 kGy - 0m (amostra com dose de 2kGy – 0 meses); 2 kGy - 9m (amostra com dose de 2 kGy – 9 meses).....	74
--	----

Figura 4: Fotomicrografias obtidas por MEV (x100) das amostras da FBM. Lado esquerdo amostras analisadas na fase inicial, lado direito amostras analisadas na fase final. Onde: (A) amostra controle – 0 meses; (B) amostra controle – 9 meses; (C) dose de 1kGy – 0 meses; (D) dose de 1 kGy – 9 meses; (E) dose de 2kGy – 0 meses; (F) dose de 2 kGy – 9 meses.....	76
--	----

CAPÍTULO III

Figura 1: Cromatogramas obtidos do extrato fenólico da FBM a 280 nm, 320 nm e 350 nm. (I) procianidina B ₁ , (II) catequina, (III) procianidina B ₂ , (IV) epicatequina, (V) floreidizina, (VI) ácido clorogênico, (VII) rutina, (VIII) quercetina galactosídeo, (IX) quercetina glicosídeo e (X) quercetina ramnosídeo.....	97
---	----

Figura 2: Gráficos de escores da PC1 x PC2 das amostras de FBM em relação as análises de compostos fenólicos individuais e suas classes determinados por HPLC, compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante (FRAP) e parâmetros de cor durante o período de armazenamento. Amostras: 1 (0 kGy – 0 meses), 2 (1 kGy – 0 meses), 3 (2 kGy – 0 meses), 4 (0 kGy – 3 meses), 5 (1 kGy – 3 meses), 6 (2kGy – 3 meses), 7 (0 kGy – 6 meses), 8 (1 kGy – 6 meses), 9 (2 kGy – 6 meses), 10 (0 kGy – 9 meses), 11 (1 kGy – 9 meses), 12 (2 kGy – 9 meses).....	105
--	-----

Figura 3: Análise Hierárquica de Agrupamentos aplicada as variáveis das amostras de FBM durante o período de armazenamento em relação as análises de compostos fenólicos individuais e suas classes determinados por HPLC, compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante (FRAP) e parâmetros de cor durante o período de armazenamento.....	106
--	-----

Figura 4: Análise Hierárquica de Agrupamentos aplicada às amostras de FBM durante o período de armazenamento em relação as análises de compostos fenólicos individuais e suas classes determinados por HPLC, compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante (FRAP) e parâmetros de cor durante o período de armazenamento	107
---	-----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1: Compostos fenólicos totais encontrados no bagaço de maçã 30

Tabela 2: Compostos fenólicos individuais encontrados no bagaço de maçã 30

CAPÍTULO II

Tabela 1: Efeitos da radiação gama nas características físico-químicas da FBM durante o período de armazenamento 64

Tabela 2: Efeitos da radiação gama nos minerais da FBM durante o período de armazenamento.....67

Tabela 3: Resultados (médias) das análises físico-químicas, sugeridos na Análise Hierárquica de agrupamento (HCA) 70

Tabela 4: Resultados das curvas TG/DTA para as amostras da farinha de bagaço de maçã..... 75

Tabela 5: Resultados das análises microbiológicas para as amostras de FBM durante o período de armazenamento 78

CAPÍTULO III

Tabela 1: Parâmetros cromatográficos de compostos fenólicos analisados por HPLC 96

Tabela 2: Efeito da radiação gama nos parâmetros de cor da FBM durante o período de armazenamento 100

Tabela 3: Resultados de compostos fenólicos individuais e suas classes determinados por HPLC, compostos fenólicos totais (CFT) e capacidade antioxidante (FRAP) 102

Tabela 4: Resultados (médias) das análises de cor, compostos fenólicos individuais por HPLC, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (FRAP), sugeridos na Análise Hierárquica de agrupamento (HCA) 108

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Aw - Atividade de água

BHA - butil-hidroxianisol

BHT - butil-hidroxitolueno

CENA - Centro de Energia Nuclear na Agricultura

CG-MS - Cromatografia a gás e espectrometria de massa

CFT – Compostos fenólicos totais

CTE - Equivalentes de catequina

DTA – Análise térmica diferencial

EGCG - Epigallocatequina-3-galato

FAO - Food and Agriculture Organization

FBM – Farinha de bagaço de maçã

FCC - Fator da curva de calibração

FDA - Food and Drug Administration

FRAP- Ferric reducing antioxidant power

Gy - Gray

HCL – Ácido clorídrico

HCA - Análise Hierárquica de Agrupamentos

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

IAEA - International Atomic Energy Agency

IAL – Instituto Adolfo Lutz

kGy - QuiloGrays

LC-DAD - Detector líquido de matriz de cromatografia de diodo

LC-ESI/MS - Cromatografia líquida - Espectrometria de ionização de massa

LDL - Low Density Lipoproteins

LOD - Limite de detecção

LOQ - Limite de quantificação

NaOH – Hidróxido de sódio

NMP – Número mais provável

PAL - Fenilalanina amônia-liase

PCA - Análise de Componentes Principais

RDC - Resolução da Diretoria Colegiada

TBHQ terc-butilhidroquinona

TG - Termogravimetria

Tp - Temperatura do pico

UFC – Unidades formadoras de colônias

USDA - United States Departamento of Agriculture

WHO - World Health Organization

⁶⁰Co – Radioisótopo Cobalto 60

¹³⁷Cs – Radioisótopo Césio 137

Δm - Perda de massa

ΔT - Variação da temperatura

α-Al₂O₃ - alfa-alumina

SUMÁRIO

CAPÍTULO I:

INTRODUÇÃO, OBJETIVOS E REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	20
2.1. OBJETIVO GERAL	20
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
3. REVISÃO DE LITERATURA	21
3.1. A MAÇÃ E SUA COMPOSIÇÃO	21
3.1.1. PRODUÇÃO E INDUSTRIALIZAÇÃO DE MAÇÃ	22
3.2. BAGAÇO DE MAÇÃ	24
3.2.1. APLICAÇÕES PARA UTILIZAÇÃO DO BAGAÇO DE MAÇÃ	25
3.3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS FENÓLICOS	27
3.3.1. TÉCNICAS E MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS NO BAGAÇO DE MAÇÃ	29
3.4. IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS	33
3.5. QUIMIOMETRIA	38
REFERÊNCIAS	40

CAPÍTULO II:

EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, TERMOGRAVIMÉTRICAS, MICROESTRUTURAIS E MICROBIOLÓGICAS DURANTE O ARMAZENAMENTO DA FARINHA DE BAGAÇO DE MAÇÃ, UTILIZANDO TÉCNICAS MULTIVARIADAS

1. INTRODUÇÃO	52
2. MATERIAL E METODOS	54
2.1. MATÉRIA PRIMA	54
2.2. MÉTODOS	54
2.2.1. PROCESSOS	54
2.2.1.1. PROCESSAMENTO DO BAGAÇO DE MAÇÃ	54
2.2.1.2. IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS	55
2.2.1.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	55
2.3. ANÁLISES	55
2.3.1. CONTEÚDO DE UMIDADE	55
2.3.2. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE ÁGUA	56
2.3.3. CONTEÚDO TOTAL DE CINZAS	56
2.3.4. DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS	56
2.3.5. DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS	57
2.3.6. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE AÇÚCARES	57

2.3.7. DETERMINAÇÃO DE FIBRA ALIMENTAR.....	59
2.3.8. DETERMINAÇÃO DE PECTINA.....	60
2.3.9. DETERMINAÇÃO DE MINERAIS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA DE CHAMA.....	61
2.3.10. ANÁLISES TÉRMICAS: TERMOGRAVIMETRIA (TG) E ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA).....	61
2.3.11. AVALIAÇÃO MICROESTRUTURAL.....	61
2.3.12. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	62
2.3.13. ANÁLISE ESTATÍSTICA	63
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
3.1. EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS COM O USO DE TÉCNICAS MULTIVARIADAS.....	64
3.2. PERFIL TERMOGRAVIMÉTRICO.....	72
3.3. AVALIAÇÃO MICROESTRUTURAL.....	75
3.4. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA.....	77
4. CONCLUSÃO	80
REFERÊNCIAS	81

CAPÍTULO III:

EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NOS COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA FARINHA DE BAGAÇO DE MAÇÃ, UTILIZANDO TÉCNICAS MULTIVARIADAS

1. INTRODUÇÃO	90
2. MATERIAL E MÉTODOS	92
2.1. MATÉRIA PRIMA.....	92
2.2. MÉTODOS.....	92
2.2.1. PROCESSOS	92
2.2.1.1. PROCESSAMENTO DO BAGAÇO DE MAÇÃ.....	92
2.2.1.2. IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS	93
2.2.1.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	93
2.3. ANÁLISES	93
2.3.1. ANÁLISE COLORIMÉTRICA.....	93
2.3.2. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE ÁGUA.....	94
2.3.3. EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS	94
2.3.4. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i>	91
2.3.5. DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	95
2.3.6. IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS POR HPLC	95
2.3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	98
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	99
4. CONCLUSÃO	110
REFERÊNCIAS	111

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

Presente na alimentação humana há séculos, a maçã contém propriedades nutricionais que a caracterizam como fruta de elevado teor de fibras, açúcares e compostos fenólicos. Esses compostos bioativos atuam na prevenção e controle de doenças degenerativas, desde que sejam aliados a um estilo de vida saudável.

Além do consumo “in natura”, a agroindústria de maçãs é responsável pelo processamento e abastecimento nacional de derivados como purês, geleias, fruta desidratada, suco concentrado e bebidas fermentadas. As maçãs fora padrão de qualidade exigido para o consumo “in natura”, são direcionadas para o processamento industrial.

Durante a prensagem da maçã é gerado um subproduto, o bagaço, tendo a mesma caracterização de nutrientes e compostos bioativos que a maçã, com constituição heterogênea, composta de casca, semente, cálice, haste e polpa. Trata-se de um material altamente instável do ponto de vista microbiológico, com elevado conteúdo de compostos fermentáveis e seu descarte pode acarretar forte impacto ambiental.

O bagaço de maçã é considerado um subproduto excelente para fins biotecnológicos, como substrato de baixo custo para a bioprodução de produtos de alto valor, incluindo os ácidos orgânicos (cítrico, láctico), enzimas (celulase, hemicelulase, amilase, pectinase e enzimas lignolíticas), antioxidantes naturais, compostos de aroma, biocombustíveis e biopolímeros (quitosana e goma xantana) e, se estabilizado por procedimento de desidratação, pode ocorrer aumento das concentrações dos nutrientes, bem como, a sua vida útil.

A irradiação de alimentos é uma técnica eficaz e limpa que faz uso da tecnologia nuclear para a conservação. É um método físico cujo processo consiste em submeter o alimento a doses minuciosamente controladas de radiações ionizantes. Para o processamento de alimentos a fonte mais comum são os raios gama, provenientes do radioisótopo Cobalto 60, que possui a vantagem da alta penetrabilidade fornecendo um tratamento uniforme.

A irradiação tem se mostrado uma alternativa economicamente viável para tratamento de alimentos, apresentando várias vantagens quando comparada aos métodos tradicionais de processamento, por isso, tem recebido atenção crescente nas

últimas décadas. Prevê-se que nos próximos anos, com mais bancos de dados e pesquisas disponíveis, certamente irá ajudar a aumentar a comercialização e aceitação desta nova tecnologia.

Diversas são as pesquisas, sobre a caracterização físico-química, fitoquímicos com potencial antioxidante e aplicações para bagaço de maçã. Contudo, até o presente momento, não há relatos na literatura sobre o efeito da radiação gama, bem como, o comportamento desta matéria-prima, durante o armazenamento.

Dessa forma, este trabalho apresenta três frentes de estudo, descritas em forma de capítulos. O primeiro contém a introdução, os objetivos e uma revisão da literatura sobre assuntos discutidos nos capítulos 2 e 3. O segundo avalia a radiação gama nas características físico-químicas, termogravimétricas, microscópicas e microbiológicas. O terceiro capítulo estuda os efeitos da radiação gama nos compostos fenólicos e atividade antioxidante. Os dois últimos capítulos investigam o bagaço de maçã irradiado, durante um período de nove meses de armazenamento, utilizando técnicas multivariadas.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos de radiação gama sobre as características físico-químicas, termogravimétricas, microestruturais, microbiológicas, compostos fenólicos e potencial antioxidante da farinha de bagaço de maçã, durante nove meses de armazenamento.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito da irradiação com doses de 0, 1 e 2 kGy, nas características físico-químicas, compostos fenólicos e atividade antioxidante, utilizando técnicas multivariadas;
- Analisar a estabilidade dos compostos fenólicos individuais durante o período de armazenamento;
- Verificar o perfil termogravimétrico da farinha de bagaço de maçã;
- Avaliar a microestrutura da farinha de bagaço de maçã por meio de microscopia eletrônica de varredura;
- Verificar a eficácia da radiação gama nas características físico-químicas, nos compostos fenólicos e no controle microbiológico.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. A MAÇÃ E SUA COMPOSIÇÃO

Proveniente da região do Cáucaso, entre a Europa oriental e Ásia ocidental, a maçã (*Malus domestica*) é tão antiga quanto a história da humanidade. Pertencente à família *Rosaceae*, essa fruta vem acompanhando o homem desde sua origem e é muito popular devido ao seu aroma, sabor e visual atrativo (Momm, 2007; ABPM, 2014).

A maçã é amplamente consumida em todo o mundo, em todas as épocas do ano, não apenas por suas qualidades organolépticas, mas também devido aos avanços tecnológicos na área de conservação (Braga *et al.*, 2013). Suas propriedades benéficas desempenham um papel importante na manutenção da saúde humana, atuando na prevenção e controle de doenças cardiovasculares, pulmonares, *diabetes mellitus* tipo 2, alergias, obesidade, colesterolemia, atividade anticarcinogênica, entre outros (Boyer e Liu, 2004; Shahidi, 2012). As substâncias que apresentam atividade antioxidante, como os polifenóis, são as responsáveis por esses efeitos benéficos ao organismo e vem apresentando cada vez mais interesse pela comunidade científica, fato observado no aumento do número de publicações nacionais e internacionais que englobam esses temas.

As principais classes de compostos fenólicos encontrados em maçãs são os ácidos fenólicos e os flavonóides. Os representantes dos ácidos fenólicos são o ácido clorogénico e ácido p-cumaroilquínicos. Os principais flavonóides são flavanóis (epicatequina, catequina e procianidinas), dihidrochalconas (floreína e floredizina), flavonóis glicosídeos (quercetina) e antocianinas (cianidina galactosídeos), sendo os dois últimos, exclusivamente presentes na casca (Alberti *et al.*, 2014). Esses compostos fenólicos também contribuem para algumas características sensoriais, como a cor, o sabor (amargo e adstringente) e formação de aromas (Queji *et al.*, 2010).

A composição química dessa fruta varia conforme a cultivar e o estágio de maturação, bem como, o solo, clima e tratamentos fitossanitários. Além dos compostos fenólicos e fibras, os nutrientes mais encontrados são os carboidratos, vitaminas e minerais, que estão presentes em maior quantidade quando comparados aos lipídeos e proteínas (Momm, 2007; Queji *et al.*, 2010). Com relação aos sólidos solúveis, destacam-se os açúcares simples (glucose, frutose e sacarose), com valor aproximado

de 14% em base úmida. Normalmente a frutose está presente em maiores proporções, conferindo um apelo funcional na elaboração de produtos derivados da maçã. O ácido málico é o ácido orgânico predominante nesta fruta por determinação gênica, 95% no total, seguindo-se o ácido cítrico e outros presentes somente em traços (Czelusniak *et al.*, 2003).

A água, que pode chegar a 90%, representa o principal componente para obtenção do suco, o que torna a maçã um produto essencialmente perecível. No entanto, sua epiderme constitui uma barreira eficaz aos processos de infecção e infestação, bem como, componentes intrínsecos impedem ou reduzem a deterioração química e biológica (Wosiacki e Nogueira, 2005; Queji *et al.*, 2010). Dentre os minerais, o potássio predomina entre os outros (cálcio, magnésio, fósforo, sódio, ferro). A concentração de vitamina C é duas a três vezes superior na epiderme, do que na polpa da fruta (Camilo e Denardi, 2002).

3.1.1. PRODUÇÃO E INDUSTRIALIZAÇÃO DE MAÇÃ

Em 1926 iniciou-se de forma experimental o cultivo de maçã no Brasil, nas regiões Sudeste e Centro-Oeste. No entanto, somente em meados da década de 70, foi notável o desenvolvimento dessa fruta no Sul do país, principalmente no Sul do estado do Paraná, Região Central de Santa Catarina e na Serra do Norte do Estado do Rio Grande do Sul, devido às características climáticas semelhantes à região de origem (Wosiacki *et al.*, 2000). São conhecidas aproximadamente 5 a 20 mil variedades de maçãs. Dentre essas, 3 a 4 mil são cultivadas, em maior ou menor escala, em diferentes partes do mundo e este número vem aumentando dia após dia, com o aprimoramento e desenvolvimento de novas variedades em estações experimentais. (Momm, 2007).

A maçã é a quarta fruta de maior produção, depois da banana, laranja e uva (WAR, 2014). Nos últimos anos, a produção mundial de maçã superou 64 milhões de toneladas. A China e os Estados Unidos lideram este ranking, com 35% e 7,5% da produção mundial, respectivamente. O Irã é o terceiro, seguido por Turquia e Rússia (Ahari Mostafavi *et al.*, 2013).

Conforme Camilo e Denardi (2002), o Brasil apresentou maior expansão em área plantada e em volume de produção entre as décadas de 70 e 80, passando de 931

hectares em 1972 a 37.413 hectares em 1980. Com incentivos fiscais e apoio a pesquisa e extensão rural, a região sul do Brasil aumentou a produção de maçãs em quantidade e qualidade, passando de importador a autossuficiente, abrindo o mercado para exportação em diversos países (ABPM, 2014). Atualmente o Brasil ocupa o décimo lugar na produção mundial. Dados do IBGE demonstram que em 2013 a produção foi de 1.226.555 toneladas em uma área plantada e colhida de 37.986 hectares, tendo como rendimento médio de 32,290 quilogramas por hectares (IBGE, 2014).

No Brasil, a produção de maçã está voltada para atender consumidores de fruta “in natura” e isto acarretou o desenvolvimento de um processo de beneficiamento rigoroso, com demanda de equipamentos automatizados, aumento de área de armazenamento com atmosfera controlada, profissionais especializados, criando empregos e impulsionando o desenvolvimento sócio – econômico (Fertonani *et al.*, 2006).

São duas as cultivares de maçã que se definem por apresentar baixo custo na produção e que alcançam a preferência e padrão de qualidade exigido pelo mercado interno, e também da indústria de suco de maçãs, a Gala e Fuji (Wosiacki *et al.*, 2004). A cultivar Gala provem do cruzamento ‘*Kidd*’ s *Orange Red* x *Red*’ x ‘*Golden Delicions*’, originária da Nova Zelândia. Atualmente o Brasil apresenta maior área plantada com a cultivar Gala original. Esta variedade tem elevada qualidade sensorial devido a sua suculência, sabor doce, média acidez e excelente aparência. A cultivar Fuji é resultante do cruzamento ‘*Ralls Janet*’ x ‘*Delicious*’, originária do Japão, apresenta tamanho médio e grande, cor de fundo esverdeada, que se torna amarela à medida que ocorre a maturação, a polpa é aromática, firme, sabor doce e muito suculenta. Essas duas cultivares, Gala e Fuji, representam aproximadamente 40%, cada uma delas, da área plantada de macieiras no Brasil (Camilo e Denardi, 2002).

O comércio varejista estabelece uma segregação baseada na qualidade visual para as maçãs brasileiras, um percentual de 15 a 30% das frutas não alcançam o padrão estabelecido para frutas de consumo “in natura” e são consideradas frutas industriais (Czelusniak *et al.*, 2003). Estas apresentam formato inadequado, tamanho pequeno, cicatrizes provenientes de ataque de insetos e pássaros, granizos, ferimentos resultantes de transporte inadequado, com má distribuição de coloração, características que as tornam sem valor comercial. Todavia, apresentam a mesma composição físico-química das frutas comerciais, podendo ser destinadas ao processamento de suco,

fabricação de sidra, vinhos, vinagre e destilados (Paganini *et al.*, 2004; Wosiacki e Nogueira, 2005).

Com a industrialização de maçãs e o aumento crescente na sua produção e comercialização a nível mundial, origina-se um enorme volume de resíduos, cerca de 12 milhões de toneladas ao ano, o que representa aproximadamente 18% da produção (USDA, 2014).

3.2. BAGAÇO DE MAÇÃ

Os resíduos são provenientes do processo industrial da maçã, para obtenção de sucos, cidras, vinhos, aguardente, vinagres, géleias, entre outros. O resíduo sólido, denominado bagaço de maçã, representa entre 30 a 40% da matéria-prima, o lodo, que é o resíduo líquido obtido após o clareamento do suco, entre 5 a 10%. Dependendo do nível de tecnologia empregada, as cascas, talos e sementes da fruta são removidos antes da prensagem, podendo influenciar na composição do bagaço (Dhillon *et al.*, 2013; Rabetafika *et al.*, 2014).

O bagaço contém as mesmas características de nutrientes e compostos bioativos quando comparado com a maçã, com constituição heterogênea, composto de casca, semente, cálice, haste e polpa, de alta carga orgânica (Paganini *et al.*, 2005; Vendruscolo *et al.*, 2009; Lavelli e Corti, 2011; Wu *et al.*, 2014).

A composição de nutrientes está relacionada com as características da fruta e do processamento, como a cultivar utilizada, a prática agrícola empregada para a produção e maturação da fruta, bem como, a metodologia para a extração do suco. O bagaço de maçã apresenta alto teor de carboidratos, fibras e compostos fenólicos, porém, baixo conteúdo de proteínas, aminoácidos essenciais, vitaminas, minerais e lipídeos. A sua constituição em termos analíticos depende muito da metodologia empregada, podem ser constituídas por 94,5% cascas e polpas, 4,4% sementes e 1% centro do fruto. Em base fresca contêm aproximadamente 14% de sólidos solúveis (glucose, frutose, sacarose e ácidos orgânicos), 11,6 - 44,5% de fibras (12 - 23,2% de celulose, 6,4 - 19% de lignina, 3,5 - 18% de pectina e 5 - 6,2% de hemicelulose) (Sato *et al.*, 2010; Lavelli e Corti, 2011; Canteri *et al.*, 2012; Vendruscolo e Ninow, 2014)

Essa massa prensada da qual foi extraído o suco e demais produtos oriundos da maçã, é altamente instável do ponto de vista químico, microbiológico e enzimático (Endreß, 2000). Se não for utilizado imediatamente pelas indústrias, torna-se necessário a sua estabilização e a desidratação, considerada uma tecnologia economicamente viável para esta finalidade (Canteri *et al.*, 2012; Rabetafika *et al.*, 2014). Pode ser realizada em fornos ou estufas por circulação de ar aquecido, com temperaturas controladas. Isto aumenta a sua estabilidade microbiológica e diminui a sua instabilidade química, concentrando os nutrientes e aumentando o tempo de prateleira, podendo ser armazenado em temperatura ambiente em frascos hermeticamente fechados (Endreß, 2000; Wang *et al.*, 2007).

O bagaço, enquanto resíduo, com custo negativo, é usado como adubo orgânico ou alimentação para gado e, se dispensado na natureza, sem nenhum tratamento, acarreta danos de forte impacto ambiental. Entretanto, enquanto subproduto com agregação de valor econômico e tratamentos adequados, com o avanço da tecnologia e pesquisas, diversas são as alternativas para acrescentar valor e aplicar o bagaço de maçã em indústria farmacêutica, cosmética e alimentos.

3.2.1. APLICAÇÕES PARA UTILIZAÇÃO DO BAGAÇO DE MAÇÃ

Os produtos biotecnológicos derivados dos resíduos de maçã podem ser usados como matéria-prima promissora para a extração direta de compostos bioativos, fabricação de produtos de alto valor agregado, bem como, na incorporação de alimentos, produção de etanol, constituintes de aromas, gás natural, ácido cítrico em fermentação semi-sólida, formação de meios de cultura para produção de cogumelos comestíveis, extração de enzimas e pectinas, entre outros. Contudo, Rabetafika *et al.* (2014) por meio de uma pesquisa abrangente, citam que o fracionamento dos principais componentes do bagaço de maçã, como fibras, pectinas, celulose, hemicelulose, oligossacarídeos, lignina e compostos fenólicos, contribuem para a implementação recente e inovadora do conceito de biorrefinaria aplicado a resíduos de alimentos.

Dhillon *et al.* (2013) também estudaram profundamente as perspectivas no tratamento desses resíduos de maçã, como substratos de baixo custo para a bioprodução de produtos de alto valor, incluindo os ácidos orgânicos (cítrico, láctico), enzimas (celulase, hemicelulase, amilase, pectinase e

enzimas lignolíticas), antioxidantes naturais, compostos de aroma, biocombustíveis, biopolímeros (quitosana e goma xantana).

Em alimentos, a farinha de bagaço de maçã é frequentemente utilizada como substituinte de farinha de trigo e outros produtos de panificação, como bolos, biscoitos e assados (Masoodi *et al.*, 2001; Sudha, 2011), aumentando o teor de fibras nos produtos finais e atuando como corante e aromatizante natural. Com a finalidade de limitar a digestão do amido e modificar as características de lanches, O'Shea *et al.* (2014), incorporaram a fibra do bagaço de maçã em produtos extrusados. Huda *et al.* (2014); Kohajdova *et al.* (2014), determinaram que uma adição de até 5% de fibra do bagaço de maçã não alterou as propriedades sensoriais e físico-químicas de biscoitos e nuggets. Royer *et al.* (2006) aplicaram o bagaço de maçã em geleia à base de marmelo, obtendo uma aprovação sensorial.

Coelho e Wosiacki (2010) utilizaram a farinha de bagaço de maçã estabilizada, que apresentou um potencial como ingrediente em biscoito, bolo, pão, pão de queijo e vitaminas, para dieta de idosos. Os resultados apresentaram um produto rico em fibras, com tendência na redução do colesterol total, LDL (*Low Density Lipoproteins*) e triglicerídeos, bem como, uma melhora no funcionamento intestinal.

Estudos citam que a patulina é o principal contaminante em maçãs e seus derivados, podendo causar efeitos tóxicos agudos em humanos. Com base nisso, Geus (2012) realizou estudos toxicológicos do bagaço desidratado de maçã em ratos e os resultados não apresentaram toxicidade nesses animais, além disso, ocorreram efeitos benéficos, com relação à glicemia e colesterolemia.

A proliferação de tumores tem sido fortemente inibida por aplicação de extratos de maçã, *in vitro*, efeitos atribuídos aos fenóis e flavonoides (Eberhardt *et al.*, 2000). Contudo, os polifenóis do bagaço de maçã são considerados compostos de alto valor que podem ser usados como ingredientes em alimentos e como antioxidantes naturais em substituição aos sintéticos. Ajila *et al.* (2011), investigaram a capacidade dos fungos *Phanerocheate chrysosporium* para liberar compostos fenólicos do bagaço de maçã por fermentação em estado sólido, os resultados melhoraram as propriedades nutraceuticas da matéria-prima. Wu *et al.* (2014) também avaliaram a eficácia do bagaço de maçã como um adsorvente para o polifenol (epigallocatequina-3-galato - EGCG), obtiveram resultados positivos para aplicações em alimentos funcionais.

Segundo Endreß (2000), com a liquefação enzimática do bagaço despectinizado e isolamento de flavonoides e açúcares neutros, podem ser aplicado em suplementos e adoçantes. Gabriel (2009) desenvolveu um adoçante natural de maçã a partir dos

açúcares solúveis residuais do bagaço, obtendo resultados satisfatórios tanto na fase exploratória prática quanto boa aceitação sensorial, citando diversas aplicações em alimentos, como barra de cereais, sobremesas, sorvetes, produtos panificados e bebidas saborizadas.

Bosse *et al.* (2013) encontraram uma mistura agradável de sabores, catorze compostos aromatizantes foram gerados pela biotransformação do bagaço de maçã utilizando culturas submersas de basidiomicetos. Rodríguez Madrera *et al.* (2013) elaboraram uma aguardente utilizando o bagaço de maçã desidratado, com diferentes espécies de levedura, resultando em diferentes aromas, o que é interessante do ponto de vista comercial.

Com o objetivo de avaliar o bagaço de maçã como fonte de carbono para a produção de quitosana fúngica, devido ao seu elevado teor de açúcares, Vendruscolo e Ninow (2014), verificaram que o bagaço é um substrato com potencial para a produção deste biopolímero, reduzindo o impacto ambiental dos resíduos agro-industriais.

Diversos são os estudos que englobam essas possibilidades de agregar valores ao bagaço de maçã. Devido ao crescimento da produção e processamento, evidencia-se a necessidade de estudos mais aprofundados e relativos ao processo de estabilização e aplicações do bagaço de maçã. Desta forma, esse aproveitamento pode se traduzir em vantagens econômicas, com valores agregados em diversas aplicações e contribuindo para solucionar parcialmente o impacto negativo ao meio ambiente.

3.3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS FENÓLICOS

Uma definição ampla para compostos com atividade antioxidante é qualquer substância que, presente em baixas concentrações comparadas a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação desse substrato de maneira eficaz (Sies e Stahl, 1995). Os antioxidantes apresentam uma larga aplicação nos setores farmacêutico, cosmético e nutricional, além de servirem como aditivos naturais em alimentos, atribuição que resulta em crescente importância, pois os antioxidantes sintéticos usados pela indústria de alimentos como BHA (butil-hidroxianisol), o BHT (butil-hidroxitolueno) e o TBHQ (terc-butilhidroquinona) despertam preocupação quanto as suas doses de segurança e toxicidade (Balasundram *et al.*, 2006).

É cada vez maior a procura por alimentos que possam trazer benefícios para a saúde e bem-estar. O aumento no consumo de frutas e vegetais tem sido amplamente reconhecido, por terem um efeito protetor contra vários tipos de câncer e contra doenças cardiovasculares (Shahidi, 2012). Os compostos fenólicos estão entre os fitoquímicos que podem prevenir o aparecimento destas doenças, devido aos seus efeitos via ação antioxidante, minimizando o estresse oxidativo e suas consequências.

Estruturalmente os compostos fenólicos contêm um anel aromático com uma ou mais hidroxilas. Na natureza, esses compostos estão em forma livre ou ligados a açúcares e proteínas, compondo dois grandes grupos: o primeiro constituído pelos ácidos fenólicos e flavonoides, e o segundo pelas cumarinas (Soares, 2002). Os compostos fenólicos são derivados de uma via de biossíntese comum, incorporando precursores tanto da via do ácido chiquímico quanto da via do acetato-malonato (Vattem e Shetty, 2005).

Os ácidos fenólicos são substâncias que constituem o grupo dos compostos fenólicos. Se caracterizam por terem um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, atribuindo propriedades antioxidantes tanto para os alimentos quanto para o organismo. Os ácidos fenólicos são divididos em dois grupos. O primeiro é composto pelos ácidos hidroxibenzóicos, contém sete átomos de carbono (C6-C1) e são os ácidos fenólicos mais simples encontrados na natureza. O segundo grupo é formado pelos ácidos hidroxicinâmicos que apresentam nove átomos de carbono (C6-C3), sendo sete os mais comumente encontrados nos vegetais (Soares, 2002; Silva, 2012).

Os flavonóides apresentam uma estrutura básica formada por C6-C3-C6, sendo os compostos mais diversificados nos vegetais. Neste grupo encontram-se as antocianinas, flavonas, flavonóis e isoflavonas, dependendo do lugar, número e combinação dos grupamentos participantes da molécula (Silva, 2012).

Diversos compostos fenólicos são encontrados em vegetais, principalmente em frutas, especiarias, ervas e algas (Vidal *et al.*, 2009; Novoa *et al.*, 2011). Essas substâncias influenciam a qualidade e estabilidade dos alimentos quanto à cor, adstringência, acidez e aroma (Soares, 2002).

Os compostos fenólicos presentes no bagaço de maçã são principalmente os ácidos fenólicos e os flavonóides. Sánchez-Rabaneda *et al.* (2004) encontraram aproximadamente 60 compostos fenólicos. A principal classe são os flavonóides, sendo

os flavonóis a maior subclasse, seguido de flavanóis, flavanonas, flavonas, dihidrochalconas e antocianinas. Os ácidos fenólicos identificados são derivados principalmente dos ácidos hidroxicinâmicos e em menor proporção de ácidos hidroxibenzóicos (Lu e Yeap Foo, 2000; Schieber *et al.*, 2003; Ćetković *et al.*, 2008; Çam e Aaby, 2010; Suárez *et al.*, 2010).

3.3.1. TÉCNICAS E MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS NO BAGAÇO DE MAÇÃ

Diversos são os estudos sobre as técnicas analíticas para a separação e identificação, bem como, extração dos compostos fenólicos. O detector líquido de matriz de cromatografia de diodo (LC-DAD) é o equipamento mais comum para validar a identificação, mas é necessário o uso de padrões conhecidos, não sendo disponível para todos os compostos fenólicos (Schieber *et al.*, 2003; Ćetković *et al.*, 2008; Garcia *et al.*, 2009; Suárez *et al.*, 2010). O espectrômetro de massa, com detector universal, acoplado ao LC-DAD, não necessita de padrões, especialmente para compostos fenólicos simples (Çam e Aaby, 2010).

Para a extração de compostos fenólicos presentes no bagaço de maçã, os mais utilizados são os solventes orgânicos, como a acetona a 70% e metanol a 80-100% (Lu e Yeap Foo, 2000; Schieber *et al.*, 2003; Ćetković *et al.*, 2008; Garcia *et al.*, 2009; Suárez *et al.*, 2010). Algumas alternativas como extração subcrítica e extração com líquido pressurizado foram estudadas. Wijngaard e Brunton (2010) utilizaram dois solventes de grau alimentar, acetona e etanol, para otimizar a extração de antioxidantes do bagaço de maçã. Çam e Aaby (2010) realizaram a extração com água a 100 °C, devido à sua segurança e acessibilidade, porém, o uso de altas temperaturas acrescenta custo significativo para a indústria (Reis *et al.*, 2012).

Nas tabelas a seguir estão listados alguns estudos sobre os solventes e as técnicas de extração de compostos fenólicos totais e individuais encontrados no bagaço de maçã.

Tabela 1: Compostos fenólicos totais encontrados no bagaço de maçã

Origem/Tratamento	Solvente/Método	Resultados (mg.100g ⁻¹)	Autor
Desidratação (5 bagaços diferentes com as maçãs: Pinova, Reinders, Jonagold, Iduna, Braeburn)	Metanol a 80% Ultrassom Folin-Ciocalteu	422 – 866	Cetkovic et al., 2008
Desidratação (maçãs Granny)	Metanol a 80% Ultrassom Folin-Ciocalteu	702	Savatovic et al., 2008
Desidratação a 45°C/4 horas (Industrial - maçã gala)	Acetona a 75% ¹ e 100% ² Folin-Ciocalteu	467 ¹ - 522 ²	Soares et al., 2008
Desidratação a 60°C (11 bagaços diferentes com maçãs experimentais)	Folin-Ciocalteu	229 – 856	Sato et al., 2010
Desidratação a 60°C/7 horas (mix de maçãs Red Delicious e Golden Delicious)	Acetona a 70% HPLC	552	Lavelli e Corti, 2011
Desidratação ¹ a 80°C e liofilização ² (mix de maçãs Roma Beleza, Fuji, Red Delicious e Golden Delicious)	Acetona a 80% centrifugação Folin-Ciocalteu	519 ¹ – 511 ²	Yan e Kerr, 2013
Liofilização (4 bagaços diferentes com as maçãs: Gala v. Royal Gala Tenroy, Golden v. Golden, Granny Smith, e Pink Lady v. Cripps Pink)	Metanol a 10% / Etanol / Acetato de etila Ultrassom/microondas Folin-Ciocalteu Leitura em microplacas	NI	Grigoras et al., 2013

NI – Não informado pelo autor

Tabela 2: Compostos fenólicos individuais encontrados no bagaço de maçã

Compostos	Origem/Tratamento	Técnica Aplicada	Procedimento	Resultado (mg.100g ⁻¹)	Autor
Ácidos fenólicos	Desidratação a 45°C/4 horas (Industrial - maçã Fuji ¹ e Gala ²)	CG-MS	Metanol, acetona e água (7:7:6)	9394 ¹ - 6838 ²	Soares et al., 2008
Ácidos hidrobenzóicos					
Ác. Gálico	Liofilização (4 bagaços diferentes com as maçãs: Gala v. Royal Gala Tenroy, Golden v. Golden, Granny Smith, e Pink Lady v. Cripps Pink)	HPLC-MS	Metanol a 10% / Etanol / Acetato de etila Ultrassom / microonda	NI	Grigoras et al., 2013
Ácidos hidroxicinâmicos					
Ác. Coumárico	Úmido (50% Granny Smith e 50% Pink Lady)	HPLC	Acetona a 70%	10,7	Wu et al., 2014
	Desidratação (mix de maçãs Red Delicious e Golden Delicious)	HPLC	Acetona a 70%	3,0	Lavelli e Corti, 2011
	Desidratação (5 bagaços diferentes com as maçãs: Pinova, Reinders, Jonagold, Iduna, Braeburn)	HPLC	Metanol a 80%	8,2 – 17,6	Cetkovic et al., 2008
Ác. Clorogênico	Desidratação (maçãs Granny)	HPLC	Metanol a 80%	5,5	Savatovic et al., 2008
	Desidratação a 45°C/4 horas (Industrial com maçã Fuji ¹ e Gala ²)	CG-MS	Metanol, acetona e água (7:7:6)	114 ¹	Soares et al., 2008
	Desidratação (mix de maçãs Red Delicious e Golden Delicious)	HPLC	Acetona a 70%	69,6	Lavelli e Corti, 2011

	Liofilização (Indústrial)	LC–ESI/MS	Água em temperatura ambiente	72,8	Reis et al., 2012
	Liofilização (4 bagaços diferentes com as maçãs: Gala v. Royal Gala Tenroy, Golden v. Golden, Granny Smith, e Pink Lady v. Cripps Pink)	HPLC-MS	Metanol a 10% / Etanol / Acetato de etila Ultrassom / microonda	NI	Grigoras et al., 2013
	Úmido (50% Granny Smith e 50% Pink Lady)	HPLC	Acetona a 70%	41,1	Wu et al., 2014
Ác. Caféico	Desidratação (5 bagaços diferentes com as maçãs: Pinova, Reinders, Jonagold, Iduna, Braeburn)	HPLC	Metanol a 80%	5,5 – 8,7	Cetkovic et al., 2008
	Desidratação (maçãs Granny)	HPLC	Metanol a 80%	3,8	Savatovic et al., 2008
Ác. Ferúlico	Desidratação a 45°C/4 horas (Industrial com maçã Fuji ¹ e Gala ²)	CG-MS	Metanol, acetona e água (7:7:6)	15,0 ²	Soares et al., 2008
Flavanóis					
	Desidratação (5 bagaços diferentes com as maçãs: Pinova, Reinders, Jonagold, Iduna, Braeburn)	HPLC	Metanol a 80%	6,5 – 12,7	Cetkovic et al., 2008
	Desidratação (maçãs Granny)	HPLC	Metanol a 80%	5,4	Savatovic et al., 2008
Catequina	Úmido (50% Granny Smith e 50% Pink Lady)	HPLC	Acetona a 70%	0,18	Wu et al., 2014
	Liofilização (4 bagaços diferentes com as maçãs: Gala v. Royal Gala Tenroy, Golden v. Golden, Granny Smith, e Pink Lady v. Cripps Pink)	HPLC-MS	Metanol a 10% / Etanol / Acetato de etila Ultrassom / microondas	NI	Grigoras et al., 2013
	Desidratação (5 bagaços diferentes com as maçãs: Pinova, Reinders, Jonagold, Iduna, Braeburn)	HPLC	Metanol a 80%	5,1 – 17,3	Cetkovic et al., 2008
	Desidratação (maçãs Granny)	HPLC	Metanol a 80%	6,2	Savatovic et al., 2008
	Desidratação (mix de maçãs Red Delicious e Golden Delicious)	HPLC	Acetona a 70%	54,7	Lavelli e Corti, 2011
	Liofilização (Indústrial)	LC–ESI/MS	Água em temperatura ambiente	53,9	Reis et al., 2012
	Úmido (50% Granny Smith e 50% Pink Lady)	HPLC	Acetona a 70%	55,2	Wu et al., 2014
Procianidina B1	Liofilização (Indústrial)	LC–ESI/MS	Água em temperatura ambiente	284	Reis et al., 2012
	Desidratação (mix de maçãs Red Delicious e Golden Delicious)	HPLC	Acetona a 70%	22,1	Lavelli e Corti, 2011
Procianidina B2	Liofilização (Indústrial)	LC–ESI/MS	Água em temperatura ambiente	699	Reis et al., 2012
Dihidrochalconas					
Floretina	Liofilização (Indústrial)	LC–ESI/MS	Água em temperatura ambiente	0,10	Reis et al., 2012

Floredzina	Desidratação (5 bagaços diferentes com as maçãs: Pinova, Reinders, Jonagold, Iduna, Braeburn)	HPLC	Metanol a 80%	0,8 – 8,5	Cetkovic et al., 2008
	Desidratação (maçãs Granny)	HPLC	Metanol a 80%	0,9	Savatovic et al., 2008
	Desidratação (mix de maçãs Red Delicious e Golden Delicious)	HPLC	Acetona a 70%	116,7	Lavelli e Corti, 2011
	Liofilização (Indústrial)	LC–ESI/MS	Água em temperatura ambiente	0,61	Reis et al., 2012
	Liofilização (4 bagaços diferentes com as maçãs: Gala v. Royal Gala Tenroy, Golden v. Golden, Granny Smith, e Pink Lady v. Cripps Pink)	HPLC-MS	Metanol a 10% / Etanol / Acetato de etila Ultrassom / microonda	NI	Grigoras et al., 2013
Flavanóides totais	Desidratação (5 bagaços diferentes com as maçãs: Pinova, Reinders, Jonagold, Iduna, Braeburn)	HPLC	Metanol a 80%	4,5 –11,9	Cetkovic et al., 2008
Flavonóis totais	Desidratação (5 bagaços diferentes com as maçãs: Pinova, Reinders, Jonagold, Iduna, Braeburn)	HPLC	Metanol a 80%	22,7 – 95,1	Cetkovic et al., 2008
Rutina	Desidratação (5 bagaços diferentes com as maçãs: Pinova, Reinders, Jonagold, Iduna, Braeburn)	HPLC	Metanol a 80%	31,6 – 47,7	Cetkovic et al., 2008
	Desidratação (maçãs Granny)	HPLC	Metanol a 80%	23,3	Savatovic et al., 2008
	Liofilização (Indústrial)	LC–ESI/MS	Água em temperatura ambiente	15,7	Reis et al., 2012
	Liofilização (4 bagaços diferentes com as maçãs: Gala v. Royal Gala Tenroy, Golden v. Golden, Granny Smith, e Pink Lady v. Cripps Pink)	HPLC-MS	Metanol a 10% / Etanol / Acetato de etila Ultrassom / microonda	NI	Grigoras et al., 2013
Quercetina galactosídeo	Desidratação (mix de maçãs Red Delicious e Golden Delicious)	HPLC	Acetona a 70%	67,7	Lavelli e Corti, 2011
Quercetina glucosídeo	Desidratação (5 bagaços diferentes com as maçãs: Pinova, Reinders, Jonagold, Iduna, Braeburn)	HPLC	Metanol a 80%	28,6 – 61,0	Cetkovic et al., 2008
	Liofilização (Indústrial)	LC–ESI/MS	Água em temperatura ambiente	23,0	Reis et al., 2012
Quercetina	Desidratação (maçãs Granny)	HPLC	Metanol a 80%	23,7	Savatovic et al., 2008
	Liofilização (Indústrial)	LC–ESI/MS	Água em temperatura ambiente	9,9	Reis et al., 2012
Kampferol	Liofilização (Indústrial)	LC–ESI/MS	Água em temperatura ambiente	0,21	Reis et al., 2012

LC–ESI/MS: Cromatografia líquida - Espectrometria de ionização de massa; CG-MS: Cromatografia a gás e espectrometria de massa; NI – Não informado pelo autor

De acordo com os equipamentos / técnicas utilizadas nas tabelas 1 e 2, pode se observar o uso frequente da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – HPLC para determinação de compostos fenólicos. Atualmente, vários pesquisadores têm enfatizado o uso dessa técnica pelo fato de apresentar alta precisão, facilidade na preparação da amostra (inclui apenas diluição e filtração como fases de pré-tratamento da amostra) e seletividade analítica para determinar e quantificar diversos componentes dos alimentos.

Zielinski et al. (2014) citam que os principais componentes determinados por HPLC são os carboidratos (Chávez-Servín et al., 2004; Muir et al., 2009), aminoácidos (Zhang et al., 2010), lipídeos (Puoci et al., 2008), vitaminas (San José Rodriguez et al., 2012), corantes (Ma et al., 2006; Vidotti et al., 2006), micotoxinas (Kawashima e Valente Soares, 2006), ácidos orgânicos (Lima et al., 2010) e compostos fenólicos (Shui e Leong, 2002; Acosta-Montoya et al., 2010; Alberti et al., 2014; Zielinski, Acácio, Alberti, Aline, et al., 2014), entre outros.

Os picos cromatográficos são identificados nos cromatogramas de acordo com seus tempos de retenção e seus espectros em determinados comprimentos de onda, por comparação com padrões. Esses estão disponíveis comercialmente ou passam por processo de purificação. A quantificação para cada composto é realizada com a relação entre a integração da área medida no cromatograma e a equação obtida da curva de calibração do padrão correspondente. As integrações ocorrem em 280nm para dihidrochalconas, 320 nm para ácidos hidroxinâmicos e 350 nm para flavonóis (Guyot et al., 2003).

A área dos picos e a variabilidade dos tempos de retenção podem atingir 5%, acima disso, a análise é inviável sem otimização. Uma pequena e tolerável diferença entre os tempos de retenção dos compostos individuais pode ser atribuída a discretas mudanças nas propriedades da coluna que ocorrem durante a realização da análise (Karaman et al., 2010).

3.4. IRRADIAÇÃO DE ALIMENTOS

O termo radiação se refere aos processos físicos de emissão e propagação de energia, enquanto o termo irradiação é utilizado para aplicação desta energia em um determinado material, atingindo os objetivos pré-estabelecidos (CNEN, 2014). A principal aplicação da radiação de alta energia causa ionização no meio em que é

absorvida, ou seja, é capaz de remover elétrons de suas órbitas em átomos ou moléculas. Por essa razão é denominada radiação ionizante (Molins, 2001).

A radiação ionizante é um fenômeno natural existente em nosso planeta desde a sua origem. A primeira proposta documentada para o uso desse método de conservação em alimentos surgiu em 1905, requerida por *Appleby e Banks* (CENA/USP, 2014). Está regulamentada pelo *Food and Drug Administration* (FDA), desde 1963. A partir de 1997, a *World Health Organization* (WHO) liberou a utilização dessa técnica para todos os tipos de alimentos, após estudos comprovarem que a mesma não é nociva à saúde.

A irradiação de alimentos é considerada uma prática eficaz, limpa e que faz uso da tecnologia nuclear. É um método físico de conservação, assim como o congelamento, refrigeração, pasteurização, entre outros. O processo consiste em submeter o alimento a doses minuciosamente controladas de radiações ionizantes como raios gama, raios-x ou feixe de elétrons. De acordo com o *Codex Alimentarius Commissium* (2014), para a radiação gama proveniente de radioisótopo ^{60}Co , a energia pode chegar até 1,33 MeV, para o ^{137}Cs até 0,662 MeV, nas radiações através do raios X, é permitido uma energia máxima de 5 MeV e para os feixes de elétrons, que são gerados por aceleradores, até 10 MeV. Essas radiações são permitidas, pois além de produzirem os efeitos desejados nos alimentos, não induzem a radioatividade (Farkas e Mohácsi-Farkas, 2011; Fanaro, 2013).

A escolha da fonte para a irradiação vai depender do material a ser irradiado e do objetivo a ser atingido, a radiação proveniente do ^{60}Co possui a vantagem de produzir raios gama com alta penetrabilidade fornecendo um tratamento uniforme, atualmente é o mais utilizado para processamento de alimentos (laea, 2013).

A instalação de um irradiador ocorre no interior de uma sala blindada, com paredes de concreto com aproximadamente dois metros de espessura. O produto a ser irradiado (embalado ou não) é levado por um sistema de esteiras para dentro do ambiente de irradiação, onde recebe a quantidade desejada de radiação ionizante, previamente calculado de acordo com cada tipo de alimento, após essa etapa o produto é removido por esteiras automáticas (CENA/USP, 2014).

Cerca de 60 países possuem legislação autorizando o uso da radiação ionizante para conservação de mais de 100 tipos de alimentos. No Brasil, os primeiros estudos foram realizados pelo Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) na década de

50 e atualmente a legislação brasileira segue as recomendações internacionais sugeridas pela *Food and Agriculture Organization* (FAO), *International Atomic Energy Agency* (IAEA) e o *Codex Alimentarius*. Atualmente no Brasil, são cinco instalações para irradiação de alimentos, já existem vários alimentos, parcialmente ou totalmente tratados por radiação ionizante, como especiarias, vegetais, ração animal, grãos e frutas (Mondanez, 2012).

A China é o maior usuário da tecnologia de irradiação de alimentos, com cerca de 70 irradiadores instalados, com aplicação em alho, especiarias, frutas legumes, carnes e outros vegetais secos (IAEA, 2014). Preocupados com a segurança alimentar dos estudantes, desde 2004, o *United States Department of Agriculture* (USDA), autorizou o abastecimento de produtos irradiados na merenda escolar e restaurantes de escolas americanas (CGEE, 2010). Os Estados Unidos trabalham com cerca de 50 instalações comerciais e aplicam em especiarias, frutas, carnes, frutos do mar, ração animal e produtos processados.

A legislação brasileira aprova o uso da radiação ionizante por meio da Resolução da Diretoria Colegiada nº 21 (RDC nº 21) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para a finalidade sanitária, fitossanitárias e/ou tecnológicas, desde que sejam observadas as seguintes condições:

- A dose mínima absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida;
- A dose máxima deverá ser inferior àquela que comprometer as propriedades funcionais e/ou os atributos sensoriais do alimento;
- A embalagem deve ter condições higiênicas aceitáveis para o processo de irradiação;
- O rótulo do produto deve ter os dizeres “ALIMENTO TRATADO POR PROCESSO DE IRRADIAÇÃO”.

Exige-se também que, quando um produto irradiado é utilizado como ingrediente em outro alimento, este fato deve ser informado na embalagem com o símbolo “radura” (Figura 1) indicando que o alimento foi tratado por irradiação. Vale ressaltar que esse processo, bem como qualquer outro tratamento aplicado aos alimentos, não deve substituir as boas práticas de fabricação e manuseio.



Figura 1: “Radura” símbolo internacional para identificar alimentos irradiados

Farkas (2006) cita que as propriedades organolépticas da maioria dos alimentos irradiados não se alteram, desde que obedecidas as doses de radiação recomendadas para cada tipo de alimento. As doses variam de acordo com o objetivo desejado, são medidas em Gray (Gy) ou QuiloGrays (kGy). Um Gray equivale a um Joule de energia por quilograma de alimento irradiado. São consideradas:

- doses baixas, menores que 1 kGy;
- doses médias, variam de 1 kGy a 10 kGy;
- doses elevadas, maiores que 10 kGy;

A FAO, IAEA e WHO confirmam que a irradiação igual ou abaixo a 10 kGy não produz quaisquer riscos toxicológicos, problemas nutricionais ou microbiológicos nos alimentos.

A radiação pode causar uma variedade de efeitos físicos e bioquímicos nos microrganismos. Uma vez absorvida por um material biológico, a radiação ionizante pode ter ação direta ou indireta sobre o produto que recebeu este processo (Fanaro, 2013).

Na ação direta, ocorre a excitação ou ionização de moléculas de ácido nucléico e a partir disso, serão conduzidas mudanças biológicas que podem levar a morte celular (Alcarde *et al.*, 2003). A sensibilidade das macromoléculas pela radiação é aproximadamente proporcional a sua massa molar, sendo que uma dose de 100 Gy danificaria 2,8% do DNA de uma célula bacteriana, enquanto que a mesma dose danificaria 0,14% das enzimas e apenas 0,005% dos aminoácidos. O dano correspondente a 2,8% do DNA pode ser letal para uma ampla fração de organismos vivos, principalmente para os organismos complexos. Em contraste, o dano de 0,14% causado às moléculas das enzimas seria difícil de ser detectado, mesmo com métodos analíticos sofisticados e uma mudança de 0,005% nos aminoácidos em sistemas

biológicos não pode ser detectada. Essas considerações explicam a razão pela qual uma determinada dose por ter um efeito letal aos microrganismos sem alterar (ou pouca alteração) a composição química do alimento irradiado (Aquino, 2003).

O efeito indireto ocorre pela interação da irradiação com a molécula de água, denominado radiólise, esse efeito gera os radicais livres, que irão interagir com outros constituintes do material biológico do produto irradiado (Tritsch, 2000; Fanaro, 2013).

A finalidade da irradiação em alimentos é aumentar o seu tempo de prateleira, pois é muito comum ocorrer a deterioração durante o período de armazenamento e transporte, devido aos microrganismos deteriorantes que se multiplicam rapidamente, causando sabores e odores desagradáveis. Assim, o processo de irradiação contribui para beneficiar a distribuição e comercialização dos alimentos (Mondanez, 2012). Hong et al., (2008) , Lacroix; Ouattara (2000) citam que a irradiação em alimentos, na forma de raios gama ou feixes de elétrons, é eficaz na superação de barreiras de quarentena no comércio internacional, como um modo de desinfecção, desinfestação e para melhorar atributos nutricionais e vida de prateleira.

Mondanez (2012) descreve que devido ao fato do consumidor estar preocupado com a qualidade de vida e, conseqüentemente, com a qualidade da sua alimentação a irradiação de alimentos pode contribuir para:

- Redução da carga microbiana presente em carnes;
- inibição ou retardo do processo germinativo em bulbos e tubérculos;
- retardo da maturação de frutas e legumes;
- eliminação de parasitas e microrganismos patogênicos que deterioram os alimentos;
- desinfecções de cereais, grãos, ervas e especiarias;
- esterilização de insetos.

Diversas técnicas de preservação foram introduzidas na indústria alimentar para melhorar a qualidade e o tempo de prateleira do produto (acidificação, adição de produtos químicos, embalagens com atmosfera modificada, tratamento de ultrassom, etc). Essas técnicas apenas controlam a atividade dos microrganismos em diferentes graus, sem eliminá-los, e a qualidade sensorial com o tempo tende a ser comprometida. Por outro lado, existem algumas técnicas mais eficazes, causando

destruição total de todos os microrganismos presentes nos alimentos, por exemplo, tratamento térmico (calor) e esterilização por radiação (sem calor) (Alothman *et al.*, 2009).

A irradiação dos alimentos tem se mostrado como uma alternativa técnica e economicamente viável para tratamento de alimentos, apresentando várias vantagens quando comparado aos métodos tradicionais de processamento, por isso, tem recebido atenção crescente nas últimas décadas (Verruma-Bernardi e Spoto, 2003). Contudo, pode ser aplicada de forma independente ou combinada às técnicas já existentes, tais como a secagem, fermentação, tratamento químico e pelo calor, conservação em baixas temperaturas ou atmosfera modificada (Fanaro, 2013).

Apesar da tecnologia de irradiação de alimentos já estar aprovada e regulamentada, muitos ainda são os obstáculos que impedem a completa comercialização de alimentos irradiados no Brasil. O uso comercial cresce lentamente, devido a interpretações equivocadas por grande parte dos consumidores brasileiros, com uma idéia preconcebida e que pode estar relacionada com a imagem negativa que a energia nuclear deixou ao mundo após as bombas de Hiroshima e Nagasaki, na II Guerra Mundial, o acidente de Chernobyl e, especificamente no Brasil, o desastre com o Césio 137, em Goiânia, e ainda devido à interpretação errônea existente entre os termos irradiação e radioatividade, frequentemente relacionados aos malefícios causados a saúde (Ornellas *et al.*, 2006; Kuramoto, 2008; França, 2013).

A aceitação de novas tecnologias de produção e processamento de alimentos por parte dos consumidores está diretamente relacionada à credibilidade e confiança nas fontes de informação. Quando devidamente informados sobre o que é, para que serve e quais são os benefícios da tecnologia de irradiação de alimentos, grande parte dos consumidores passa a reagir de forma positiva (Mondanez, 2012).

3.5. QUIMIOMETRIA

A quimiometria é uma ciência multidisciplinar que abrange técnicas estatísticas multivariadas, modelos matemáticos e tecnologia da informação para a classificação, interpretação e previsão de conjunto de dados (Cruz *et al.*, 2013). As ferramentas mais utilizadas compreendem a Análise de Componentes Principais (PCA) e a Análise

Hierárquica de Agrupamentos (HCA), que permitem a interpretação multivariada de conjuntos de dados grandes e complexos por meio de gráficos bi ou tridimensionais.

Estes gráficos expressam as possíveis inter-relações entre as variáveis, facilitando a interpretação multivariada do comportamento das amostras. Ambas as ferramentas são classificadas como exploratórias ou não supervisionadas, visto que nenhuma informação com relação a identidade das amostras é levada em consideração na análise (Correia e Ferreira, 2007; Los, 2014).

Normalmente, a PCA é utilizada para visualizar a estrutura dos dados, bem como, encontrar similaridades entre as amostras e detectar amostras anômalas “outliers”, permite a redução da dimensionalidade com a representação do conjunto de dados em um novo sistema de eixos, denominados de componentes principais (PC). As amostras são pontos localizados em um espaço n-dimensional, sendo o n igual ao número de variáveis. Com a redução da dimensionalidade proporcionada pela PCA, as amostras passam a ser pontos localizados em espaços de dimensões reduzidas. Determina-se o número de componentes principais utilizados no modelo PCA com a porcentagem de variância explicada, selecionado um número de componentes, de tal maneira que a maior porcentagem de variação presente no conjunto de dados originais seja capturada (Souza e Poppi, 2012; Los, 2014).

A HCA é um processo hierárquico onde a matriz de dados sofre diminuição de uma dimensão, com a união de pares semelhantes, até a junção de todos os pontos em um único grupo. O objetivo dessa técnica é exibir os dados em um espaço bidimensional, enfatizando os seus agrupamentos e padrões naturais. Os resultados são apresentados em forma de dendrogramas, no qual as amostras ou variáveis são agrupados em função de suas similaridades. Quanto maior a distância observada pela projeção no eixo das abcissas, menor a similaridade entre as amostras (Souza e Poppi, 2012; Los, 2014).

Ambas as técnicas são complementares, portanto, é recomendável a utilização conjunta em estudos não supervisionados de reconhecimento de padrões, aumentando a consistência das interpretações, o entendimento do conjunto de dados, e as inter-relações entre as variáveis se tornam mais evidentes, facilitando a visualização.

REFERÊNCIAS

ABPM. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MAÇÃ. Disponível em: <http://www.abpm.org.br> Acesso em 20 setembro de 2014.

ACOSTA-MONTOYA, Ó.; VAILLANT, F.; COZZANO, S.; MERTZ, C.; PÉREZ, A. M.; CASTRO, M. V. Phenolic content and antioxidant capacity of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichus* Schldl.) during three edible maturity stages. **Food Chemistry**, v. 119, n. 4, p. 1497-1501, 2010.

AHARI MOSTAFAVI, H.; MAHYAR MIRMAJLESSI, S.; FATHOLLAHI, H.; SHAHBAZI, S.; MOHAMMAD MIRJALILI, S. Integrated effect of gamma radiation and biocontrol agent on quality parameters of apple fruit: An innovative commercial preservation method. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 91, n. 0, p. 193-199, 2013.

AJILA, C. M.; BRAR, S. K.; VERMA, M.; TYAGI, R. D.; VALÉRO, J. R. Solid-state fermentation of apple pomace using *Phanerocheate chrysosporium* – Liberation and extraction of phenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1071-1080, 2011.

ALBERTI, A.; ZIELINSKI, A. A. F.; ZARDO, D. M.; DEMIATE, I. M.; NOGUEIRA, A.; MAFRA, L. I. Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 149, n. 0, p. 151-158, 2014.

ALCARDE, A. R.; WALDER, J. M. M.; HORII, J. Fermentation of irradiated sugarcane must. **Science Agriculture**, v. 60, p. 677 - 681, 2003.

ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Effects of radiation processing on phytochemicals and antioxidants in plant produce. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 5, p. 201-212, 2009.

AQUINO, S. Efeitos da radiação gama no crescimento de *Aspergillus flavus* produtor de aflotoxinas e no emprego da técnica da reação em cadeia de polimerase (PCR) em amostras de grãos de milho inoculadas artificialmente. **Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares**, 2003.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BOSSE, A. K.; FRAATZ, M. A.; ZORN, H. Formation of complex natural flavours by biotransformation of apple pomace with basidiomycetes. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 2952-2959, 2013.

BOYER, J.; LIU, R. H. Apple phytochemicals and their health benefits. **Nutrition Journal**, v. 3, p. 5, 2004.

BRAGA, C. M.; ZIELINSKI, A. A. F.; SILVA, K. M. D.; DE SOUZA, F. K. F.; PIETROWSKI, G. D. A. M.; COUTO, M.; GRANATO, D.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Classification of juices and fermented beverages made from unripe, ripe and senescent apples based on the aromatic profile using chemometrics. **Food Chemistry**, v. 141, n. 2, p. 967-974, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos**, 2001.

ÇAM, M.; AABY, K. Optimization of extraction of apple pomace phenolics with water by response surface methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 16, p. 9103-9111, 2010.

CAMILO, A. P.; DENARDI, F. Cultivares: Descrição e comportamento no sul do Brasil. A cultura da macieira. **EPAGRI - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina**, 2002.

CANTERI, M. H. G.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G.; PETKOWICZ, C. L. D. O. **Characterization of Apple Pectin – A Chromatographic Approach**. 2012. Disponível em: < <http://www.intechopen.com/books/export/citation/EndNote/chromatography-the-most-versatile-method-of-chemical-analysis/characterization-of-apple-pectin-a-chromatographic-approach> >.

CENA/USP. Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Campus “Luiz Queiroz”. Irradiação de Alimentos. Disponível em: <http://www.cena.usp.br>, Acesso em: 18 abril de 2014.

ĆETKOVIĆ, G.; ČANADANOVIĆ-BRUNET, J.; DJILAS, S.; SAVATOVIĆ, S.; MANDIĆ, A.; TUMBAS, V. Assessment of polyphenolic content and in vitro antiradical characteristics of apple pomace. **Food Chemistry**, v. 109, n. 2, p. 340-347, 2008.

CGEE. Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. Estudos da Cadeia de Suprimento do Programa Nuclear Brasileiro. Relatório parcial: Irradiadores e Aplicações. **Panorama – Análise de Oportunidades e Desafios para o Segmento de Irradiadores e Aplicações na Cadeia Produtiva do Agronegócio**. Brasília, 2010.

CHÁVEZ-SERVÍN, J. L.; CASTELLOTE, A. I.; LÓPEZ-SABATER, M. C. Analysis of mono- and disaccharides in milk-based formulae by high-performance liquid chromatography with refractive index detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1043, n. 2, p. 211-215, 2004.

CNEN. COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR. Disponível em www.cnem.gov.br, Acesso em 25 julho de 2014.

CODEX. ALIMENTARIUS COMMISSIUM. disponível em www.codexalimentarius.org/, Acesso em 25 de julho de 2014.

COELHO, L. M.; WOSIACKI, G. Avaliação sensorial de produtos panificados com adição de farinha de bagaço de maçã. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 30, p. 582-588, 2010.

CORREIA, P. R. M.; FERREIRA, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 481-487 2007.

CRUZ, A. G.; CADENA, R. S.; ALVARO, M.; SANT'ANA, A. S.; OLIVEIRA, C. A. F.; FARIA, J. A. F.; BOLINI, H. M. A.; FERREIRA, M. M. C. Assessing the use of different chemometric techniques to discriminate low-fat and full-fat yogurts. **LWT-Food Sci. Technol.**, v. 50, n. 1, p. 210-214, 2013.

CZELUSNIAK, C.; OLIVEIRA, M. C. S.; NOGUEIRA, N. C.; WOSIACKI, G. Qualidade de maçãs comerciais produzidas no Brasil: aspectos físico-químicos. **Brasileian Journal of Food Technology**, v. 6, p. 25 - 31, 2003.

DHILLON, G. S.; KAUR, S.; BRAR, S. K. Perspective of apple processing wastes as low-cost substrates for bioproduction of high value products: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, n. 0, p. 789-805, 2013.

EBERHARDT, M. V.; LEE, C. Y.; LIU, R. H. Antioxidant activity of fresh apples. **Nature**, v. 22, n. 405, p. 903 - 904, 2000.

ENDREB, H. U. High quality resulting from product integrated environment protection – PIUS. **Fruit Processing**, v. 7, p. 273 - 276, 2000.

FANARO, G. B. Efeito da radiação ionizante em chás de planta camellia sinensis irradiados com diferentes atividades de água. **Tese (Doutorado em Ciências e Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares**, 2013.

FAO. Food and Agricultural Organization. Disponível em: <http://www.fao.org>. Acesso em: 05 jun. 2014,

FARKAS, J. Irradiation for better foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 4, p. 148-152, 2006.

FARKAS, J.; MOHÁCSI-FARKAS, C. History and future of food irradiation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 2-3, p. 121-126, 2011.

FDA. – U.S. Food and Drugs Administration. Disponível em: <http://www.fda.gov>, Acesso em: 05 jun. 2014.

FERTONANI, H. C. R.; SIMÕES, D. R. S.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Potencial da variedade Joaquina para o processamento de suco clarificado e vinho seco de maçã. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 26, p. 434-440, 2006.

FRANÇA, H. Brasileiro ainda desconhece benefícios da irradiação de alimentos. **Agência Brasil**, 2000. Disponível em: <http://www.radiobras.gov.br> v. Acesso em: 15 jun. 2013, 2013.

GABRIEL, L. S. **Aproveitamento tecnológico do bagaço de maçã como matéria-prima na elaboração de adoçante natural**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2009.

GARCIA, Y.; VALLES, B. S.; LOBO, A. P. Phenolic and antioxidant composition of by-products from the cider industry: Apple pomace. **Food Chem.**, v. 117, n. 4, p. 731-738, 2009.

GEUS, L. M. M. Bagaço de maçã: Aspectos nutricionais, de toxicidade e efeitos biológicos **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Ponta Grossa**, 2012.

GRIGORAS, C. G.; DESTANDAU, E.; FOUGÈRE, L.; ELFAKIR, C. Evaluation of apple pomace extracts as a source of bioactive compounds. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 794-804, 2013.

GUYOT, S.; MARNET, N.; SANONER, P.; DRILLEAU, J. Variability of the polyphenolic composition of cider apple (*malus domestica*) fruits and juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 21, p. 6240 - 6247, 2003.

HONG, Y.-H.; PARK, J.-Y.; PARK, J.-H.; CHUNG, M.-S.; KWON, K.-S.; CHUNG, K.; WON, M.; SONG, K.-B. Inactivation of *Enterobacter sakazakii*, *Bacillus cereus*, and *Salmonella typhimurium* in powdered weaning food by electron-beam irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 77, n. 9, p. 1097-1100, 2008.

HUDA, A. B.; PARVEEN, S.; RATHER, S. A.; AKHTER, R.; HASSAN, M. Effect of incorporation of apple pomace on the physico-chemical, sensory and textural properties of mutton nuggets. **International Journal of Advanced Research**, v. 2, n. 4, p. 974 - 983, 2014.

IAEA. International Atomic Energy Agency. Disponível em: <http://www.iaea.org>. Acesso em: 05 jun. 2013,

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil**, v. 27, p. 61, 2014.

KARAMAN, Ş.; TÜTEM, E.; SÖZGEN BAŞKAN, K.; APAK, R. Comparison of total antioxidant capacity and phenolic composition of some apple juices with combined HPLC–CUPRAC assay. **Food Chemistry**, v. 120, n. 4, p. 1201-1209, 2010.

KAWASHIMA, L. M.; VALENTE SOARES, L. M. Incidência de fumonisina B1, aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, ocratoxina A e zearalenona em produtos de milho. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 26, p. 516-521, 2006.

KOHAJDOVA, Z.; J., K.; M., M.; V., K. Effect of apple pomace powder addition on farinographic properties of wheat dough and biscuits quality. **Chemical Papers**, v. 68, n. 8, p. 1059 - 1065, 2014.

KURAMOTO, E. Os dividendos da Tecnologia Nuclear. **Custo Brasil**, v. 2, p. 34 - 35, 2008.

LACROIX, M.; OUATTARA, B. Combined industrial processes with irradiation to assure innocuity and preservation of food products — a review. **Food Research International**, v. 33, n. 9, p. 719-724, 2000.

LAVELLI, V.; CORTI, S. Phloridzin and other phytochemicals in apple pomace: Stability evaluation upon dehydration and storage of dried product. **Food Chemistry**, v. 129, n. 4, p. 1578-1583, 2011.

LIMA, L. L. D. A.; SCHULER, A.; GUERRA, N. B.; PEREIRA, G. E.; LIMA, T. L. D. A.; ROCHA, H. Otimização e validação de método para determinação de ácidos orgânicos em vinhos por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 33, p. 1186-1189, 2010.

LOS, F. G. B. Avaliação da qualidade de presunto cozido e influencia do emprego da matéria-prima congelada. **dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade de Ponta Grossa**, 2014.

LU, Y.; YEAP FOO, Y. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. **Food Chemistry**, v. 68, n. 1, p. 81-85, 2000.

MA, M.; LUO, X.; CHEN, B.; SU, S.; YAO, S. Simultaneous determination of water-soluble and fat-soluble synthetic colorants in foodstuff by high-performance liquid chromatography–diode array detection–electrospray mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1103, n. 1, p. 170-176, 2006.

MASOODI, F. A.; CHAUHAN, G. S.; TYAGI, S. M.; KUMBHAR, B. K.; KAUR, H. Effect of apple pomace incorporation on rheological characteristics of wheat flour. **International Journal of Food Properties**, v. 4, n. 2, p. 215 - 223, 2001.

MOLINS, R. A. Food irradiation: principles and applications. **New York: Wiley - Interscience**, p. 469, 2001.

MOMM; A. Efeito do bagaço de maçã sobre a glicemia, lipidemia, peroxidação de lipídeos e peso corporal em ratos obesos. **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Ponta Grossa**, 2007.

MONDANEZ, L. Aceitação de Alimentos Irradiados: Uma questão de educação. **Tese (Doutorado em Ciências e Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares**, 2012.

MUIR, J. G.; ROSE, R.; ROSELLA, O.; LIELS, K.; BARRETT, J. S.; SHEPHERD, S. J.; GIBSON, P. R. Measurement of Short-Chain Carbohydrates in Common Australian Vegetables and Fruits by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 2, p. 554-565, 2009.

NOVOA, A. V.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; LINARES, A. F.; SILVA, A. M. O.; GENOVESE, M. I.; GONZÁLES, A. E. B.; VUORELA, P.; COSTA, A.; MANCINI FILHO, J. Antioxidant activity and possible bioactive components in hydrophilic and lipophilic fractions from the seaweed *Halimeda incrassata*. **Revista brasileira de Farmacognosia**, v. 21, p. 53 – 57, 2011.

O'SHEA, N.; ARENDT, E.; GALLAGHER, E. Enhancing an extruded puffed snack by optimising die head temperature, screw speed and apple pomace inclusion. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, p. 1767 - 1782, 2014.

ORNELLAS, C. B. D.; GONÇALVES, M. P. J.; SILVA, P. R.; MARTINS, R. T. Atitude do consumidor frente à irradiação de alimentos. **Customer attitude front to the food irradiation**, v. 26, n. 1, p. 211-213, 2006.

PAGANINI, C.; NOGUEIRA, A.; DENARDI, F.; WOSIACKI, G. Análise da aptidão industrial de seis cultivares de maçãs, considerando suas avaliações físico-químicas (Dados da Safra 2001/2002). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 1336-1343, 2004.

PAGANINI, C.; NOGUEIRA, A.; SILVA, N. C.; WOSIACKI, G. Aproveitamento de bagaço de maçã para a produção de álcool e obtenção de fibras alimentares. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, p. 1231-1238, 2005.

PUOCI, F.; CURCIO, M.; CIRILLO, G.; IEMMA, F.; SPIZZIRRI, U. G.; PICCI, N. Molecularly imprinted solid-phase extraction for cholesterol determination in cheese products. **Food Chemistry**, v. 106, n. 2, p. 836-842, 2008.

QUEJI, M. D.; WOSIACKI, G.; CORDEIRO, G. A.; PERALTA-ZAMORA, P. G.; NAGATA, N. Determination of simple sugars, malic acid and total phenolic compounds in apple pomace by infrared spectroscopy and PLSR. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, n. 3, p. 602-609, 2010.

RABETAFIKA, H. N.; BCHIR, B.; BLECKER, C.; RICHEL, A. Fractionation of apple by-products as source of new ingredients: Current situation and perspectives. **Trends in Food Science & Technology**, n. 0, 2014.

REIS, S. F.; RAI, D. K.; ABU-GHANNAM, N. Water at room temperature as a solvent for the extraction of apple pomace phenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1991-1998, 2012.

RODRÍGUEZ MADRERA, R.; PANDO BEDRIÑANA, R.; GARCÍA HEVIA, A.; ARCE, M. B.; SUÁREZ VALLES, B. Production of spirits from dry apple pomace and selected yeasts. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, n. 4, p. 623-631, 2013.

ROYER, G.; MADIETA, E.; SYMONEAUX, R.; JOURJON, F. Preliminary study of the production of apple pomace and quince jelly. **LWT - Food Science and Technology**, v. 39, n. 9, p. 1022-1025, 2006.

SAN JOSÉ RODRIGUEZ, R.; FERNÁNDEZ-RUIZ, V.; CÁMARA, M.; SÁNCHEZ-MATA, M. C. Simultaneous determination of vitamin B1 and B2 in complex cereal foods, by reverse phase isocratic HPLC-UV. **Journal of Cereal Science**, v. 55, n. 3, p. 293-299, 2012.

SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; JÁUREGUI, O.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M.; VILADOMAT, F.; BASTIDA, J.; CODINA, C. Qualitative analysis of phenolic compounds in apple pomace using liquid chromatography coupled to mass spectrometry in tandem mode. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 18, n. 5, p. 553-563, 2004.

SATO, M. F.; VIEIRA, R. G.; ZARDO, D. M.; FALCÃO, L. D.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Apple pomace from eleven cultivars: an approach to identify sources of bioactive compounds. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, p. 29-35, 2010.

SAVATOVIĆ, S. M.; ĆETKOVIĆ, G. S.; DILAS, S. M.; TUMBAS, V. T.; ČANADANOVIĆ-BRUNET, J. M.; ČETOJEVIĆ-SIMIN, D. D.; MANDIĆ, A. I. Antioxidant and antiproliferative activity of Granny Smith apple pomace. **Acta Periodica Technologica**, v. 39, p. 201-212, 2008.

SCHIEBER, A.; HILT, P.; STREKER, P.; ENDREß, H.-U.; RENTSCHLER, C.; CARLE, R. A new process for the combined recovery of pectin and phenolic compounds from apple pomace. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 4, n. 1, p. 99-107, 2003.

SHAHIDI, F. Nutraceuticals, functional foods and dietary supplements in health and disease. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 20, n. SUPPL.1, p. 226-230, 2012.

SHUI, G.; LEONG, L. P. Separation and determination of organic acids and phenolic compounds in fruit juices and drinks by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 977, n. 1, p. 89-96, 2002.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, β - carotene, and other carotenoids as antioxidants. **The American Journal of Clinical Nutrition**. Bethesda, v. 62, n. 6, p. 1315 - 1321,, 1995.

SILVA, A. M. O. Efeito dos compostos fenólicos do Alecrim na inflamação aguda e sobre os marcadores de estresse oxidativo de ratos diabéticos. . **Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos – Área de Nutrição Experimental), Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.** , 2012.

SOARES, M.; WELTER, L.; GONZAGA, L.; LIMA, A.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 28, p. 727-732, 2008.

SOARES, M. C.; RIBEIRO, E. T.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L. V.; LIMA, A.; FILHO, J. M.; FETT, R. Composition of phenolic acids content in apple (*Malus* sp) pomace / Composição do conteúdo de ácidos fenólicos no bagaço de maçã (*Malus* sp). **Semina : Ciências Agrárias**, v. 29, n. 2, p. 339, 2008.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidante. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71 – 81, 2002.

SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: UM tutorial, parte I. **Teaching experiment of chemometrics for exploratory analysis of edible vegetable oils by mid infrared spectroscopy and principal component analysis: A tutorial, part I**, v. 35, n. 1, p. 223-229, 2012.

SUÁREZ, B.; GARCÍA, Y. D.; LOBO, A. P.; ÁLVAREZ, Á. L.; BARRIO, G. D.; PARRA, F. Phenolic profiles, antioxidant activity and in vitro antiviral properties of apple pomace. **Food Chemistry**, v. 120, n. 1, p. 339-342, 2010.

SUDHA, M. L. Chapter 36 - Apple Pomace (By-Product of Fruit Juice Industry) as a Flour Fortification Strategy. **Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention**, p. 395-405, 2011.

TRITSCH, G. L. Food irradiation. **Nutrition**, v. 16, n. 698 - 701, 2000.

USDA. Economics, Statistics and Market Information System (ESMIS). **Disponível em www.usda.mannlib.cornell.edu. Acesso em 20 de março 2014,**

VATTEM, D. A.; SHETTY, K. Biological functionality of ellagic acid: a review. **Journal of Food Biochemistry**, v. 29, p. 234 – 266, 2005.

VENDRUSCOLO, F.; NINOW, J. L. Apple pomace as a substrate for fungal chitosan production in an airlift bioreactor. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, n. 0, 2014.

VENDRUSCOLO, F.; RIBEIRO, C. S.; ESPÓSITO, E.; NINOW, J. L. Tratamento biológico do bagaço de maçã e adição em dietas para alevinos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 13, p. 487-493, 2009.

VERRUMA-BERNARDI, M. R.; SPOTO, M. H. F. Efeito da radiação gama sobre o perfil sensorial de suco de laranja Effect of gamma irradiation on sensory profile of orange juice. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 28, 2003.

VIDAL, A.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; SILVA, A. M. O.; PAVAN, R.; LIMA, A.; FALLARERO, A.; BATISTA, A. E.; MANCINI-FILHO, J. Actividad antioxidante y polifenoles de las algas marinas halimeda opuntia y halimeda monile. **Ars Pharmaceutica**, v. 50, p. 24 - 31, 2009.

VIDOTTI, E. C.; COSTA, W. F.; OLIVEIRA, C. C. Development of a green chromatographic method for determination of colorants in food samples. **Talanta**, v. 68, n. 3, p. 516-521, 2006.

WANG, Z.; SUN, J.; CHEN, F.; LIAO, X.; HU, X. Mathematical modelling on thin layer microwave drying of apple pomace with and without hot air pre-drying. **Journal of Food Engineering**, v. 80, n. 2, p. 536-544, 2007.

WAR. World apple review. **Disponível em www.belrose.com** Acesso em 25 setembro de 2014

WHO. World Health Organization. **Disponível em: <http://www.who.int>. Acesso em: 05 jun. 2014,**

WIJNGAARD, H. H.; BRUNTON, N. The optimisation of solid–liquid extraction of antioxidants from apple pomace by response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v. 96, n. 1, p. 134-140, 2010.

WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. O suco de maçã. **Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. In: VENTURINI FILHO, W. G. São Paulo: Edgard Blücher, cap. 12, p. 255 - 292, 2005.

WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A.; SILVA, N. C. C. Brazilian Apple Production: A few years later. **Fruit Processing**, v. 10, p. 472 - 475, 2000.

WOSIACKI, G.; PHOLMAN, B. C.; NOGUEIRA, A. Características de qualidade de cultivares de maçã: avaliação físico-química e sensorial de quinze cultivares. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 24, p. 347-352, 2004.

WU, L.; MELTON, L. D.; SANGUANSRI, L.; AUGUSTIN, M. A. The batch adsorption of the epigallocatechin gallate onto apple pomace. **Food Chemistry**, v. 160, n. 0, p. 260-265, 2014.

YAN, H.; KERR, W. L. Total phenolics content, anthocyanins, and dietary fiber content of apple pomace powders produced by vacuum-belt drying. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 6, p. 1499-1504, 2013.

ZHANG, Y.; LI, P.; CHENG, L. Developmental changes of carbohydrates, organic acids, amino acids, and phenolic compounds in 'Honeycrisp' apple flesh. **Food Chemistry**, v. 123, n. 4, p. 1013-1018, 2010.

ZIELINSKI, A.; BRAGA, C. M.; DEMIATE, I. M.; BELTRAME, F. L.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Development and optimization of a HPLC-RI method for the determination of major sugars in apple juice and evaluation of the effect of the ripening stage. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 34, p. 38-43, 2014.

ZIELINSKI, A. A.; ALBERTI, A.; MAIA BRAGA, C.; MARQUES DA SILVA, K.; GIOVANETTI CANTERI, M. H.; IGARASHI MAFRA, L.; GRANATO, D.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Effect of mash maceration and ripening stage of apples on phenolic compounds and antioxidant power of cloudy juices: A study using chemometrics. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, n. 1, p. 223-229, 2014.

CAPÍTULO II

EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, TERMOGRAVIMÉTRICAS, MICROESTRUTURAIS E MICROBIOLÓGICAS DURANTE O ARMAZENAMENTO DA FARINHA DE BAGAÇO DE MAÇÃ, UTILIZANDO TÉCNICAS MULTIVARIADAS

RESUMO

A composição dos nutrientes do bagaço de maçã está associada com as características da fruta e do processamento. Apresenta alto teor de carboidratos, fibras e compostos fenólicos, porém, baixo conteúdo de proteínas, aminoácidos essenciais, vitaminas, minerais e lipídeos. O alto teor de fibra pode auxiliar na prevenção e tratamento da obesidade, aterosclerose, doenças cardiovasculares, câncer do intestino grosso, diabetes e benefícios ao trato-gastro intestinal. As propriedades organolépticas dos alimentos irradiados não se alteram, desde que obedecidas as doses de radiação, recomendadas para cada tipo de alimento. A irradiação aumenta o tempo de prateleira dos alimentos, sendo comum ocorrer a deterioração durante o período de armazenamento, devido à reprodução de microrganismos deteriorantes. Este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da radiação gama nas características físico-químicas, termogravimétricas, microestruturais e microbiológicas da farinha de bagaço de maçã, durante nove meses de armazenamento, utilizando técnicas multivariadas, como a Análise de Componentes Principais (PCA) e a Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA). A radiação gama e o período de armazenamento não influenciaram nos parâmetros de lipídeos, sacarose, frutose e cinzas. Os Açúcares Redutores não foram influenciados pela irradiação e a dose de 1 kGy se manteve estável durante o período de armazenamento. A glucose se manteve estável a partir do terceiro mês, e os maiores teores foram encontrados na dose de 2 kGy. O mineral cálcio apresentou maiores teores nas amostras irradiadas. Os teores de fibra alimentar nas amostras irradiadas resultam em menores valores quando comparadas a amostra controle, mas continuaram dentro dos índices encontrados na literatura. As amostras irradiadas durante o armazenamento se mostrou estável para os teores de proteína, lipídeos, fibra alimentar, Açúcar redutor total, os minerais K, Zn, Fe e Mn. A abordagem quimiométrica se mostrou eficaz ao facilitar a visualização das amostras da farinha de bagaço de maçã, nos parâmetros físico-químicos. Com os grupos sugeridos na HCA, de uma forma geral, pode-se afirmar que os resultados não foram influenciados pelo efeito da radiação gama durante o período de armazenamento. As curvas de Termogravimetria apresentam quatro perdas principais de massa, em reações consecutivas. Com as fotomicrografias, observou-se um material de composição orgânica, bem heterogêneo, com aglomerados de partículas que apresentam formas e tamanhos irregulares. Para as análises microbiológicas, a dose de 1 kGy ocorreram presença de bolores aos 9 meses, porém, abaixo da tolerância indicativa e na dose de 2 kGy foi letal para a inibição de bolores e leveduras.

Palavras-chave: irradiação, fibra alimentar, estabilidade, PCA, HCA

ABSTRACT

The composition of apple pomace of nutrients is associated with fruit and processing characteristics. It features high-carbohydrate, fiber and phenolic compounds, however, low in protein, essential amino acids, vitamins, minerals and lipids. The high fiber may aid in preventing and treating obesity, atherosclerosis, cardiovascular disease, colon cancer, diabetes and benefits to the digestive tract. The organoleptic properties of irradiated foods do not change, provided they obey the radiation doses recommended for each type of food. The irradiation increases the shelf life of the food, being common to lead to deterioration during storage, due to the deteriorating reproduction of microorganisms. This study aimed to evaluate the effects of gamma radiation on the physicochemical characteristics, thermogravimetric, microstructural and microbiological characteristics of dehydrated apple pomace, for nine months of storage, using multivariate techniques such as principal component analysis (PCA) and the Analysis hierarchical Groups (HCA). Gamma radiation and the storage period did not influence the parameters of lipid, sucrose, fructose and ashes. The Reducing Sugars were not affected by irradiation and the dose of 1 kGy remained stable during the storage period. The glucose was stable from the third month, and the highest levels were found at a dose of 2 kGy. The mineral calcium levels were higher in the irradiated samples. The dietary fiber content of the irradiated samples resulted in lower values when compared to the control sample, but remained within the contents found in the literature. The irradiated samples during storage remained stable for the content of protein, lipids, dietary fiber, total reducing sugar, minerals K, Zn, Fe and Mn. The chemometric approach is effective to facilitate the visualization of bagasse flour samples dehydrated apple on the physical and chemical parameters. With the groups suggested in the HCA, in general, it can be stated that the results were not influenced by the effect of gamma radiation during the storage period. The Thermogravimetry curves have four major mass loss in consecutive reactions. In the photomicrographs, there was an organic material composition and heterogeneous, with agglomerates of particles which have irregular shapes and sizes. For microbiological analyzes, the dose of 1 kGy occurred presence of molds at 9 months, however, below the indicative tolerance and dose of 2 kGy was lethal to the inhibition of yeasts and molds.

Keywords: Radiation, dietary fiber, stability, PCA, HCA

1. INTRODUÇÃO

Estima-se que 70% das maçãs são consumidas de forma “in natura”, enquanto que 30% são disponibilizadas para processamento de sucos, sidras, vinhos, vinagre, destilados e outros produtos derivados desta fruta (Lavelli e Kerr, 2012). As maçãs denominadas industriais apresentam formato inadequado e cicatrizes, características que as tornam sem valor comercial (Paganini *et al.*, 2004; Nogueira *et al.*, 2005). Esse processamento resulta em enormes quantidades de resíduos, o que representa uma fonte de desperdício significativo em muitos países, gerando milhões de toneladas de bagaço de maçã a cada ano (Bhushan *et al.*, 2008).

A composição dos nutrientes do bagaço de maçã está associada com as características da fruta e do processamento, bem como, a metodologia empregada para a extração do suco. Apresenta alto teor de carboidratos, fibras e compostos fenólicos, porém, baixo conteúdo de proteínas, aminoácidos essenciais, vitaminas, minerais e lipídeos. Podem ser constituídas por 94,5% de cascas e polpas, 4,4% de sementes e 1% do centro do fruto. Em base fresca contêm aproximadamente 14% de sólidos solúveis (glucose, frutose, sacarose e ácidos orgânicos), 11,6 a 44,5% de fibras (12 a 23,2% de celulose, 6,4 a 19% de lignina, 3,5 a 18 de pectina e 5 a 6,2% de hemicelulose) (Vendruscolo *et al.*, 2009; Sato *et al.*, 2010; Lavelli e Corti, 2011; Canteri *et al.*, 2012).

O alto teor de fibra encontrado no bagaço de maçã pode auxiliar na prevenção e tratamento da obesidade, arteriosclerose, doenças cardiovasculares, câncer do intestino grosso e diabetes, por ser considerada um polifenol, o consumo de fibra dietética diminui os níveis de insulina no sangue e traz benefícios ao trato-gastro intestinal (Kosmala *et al.*, 2011). Estas propriedades promotoras da saúde têm sido tema de pesquisa de diversos estudos relacionado com a maçã e seus derivados (Sudha *et al.*, 2007; Soukoulis *et al.*, 2009; Sun-Waterhouse *et al.*, 2010; Yan e Kerr, 2013). Em contrapartida, ainda é raro encontrar estudos sobre a cinética dessas fibras por meio de termogravimetria, isso é muito importante para revelar como ocorre em detalhes toda a decomposição térmica da matéria prima.

A irradiação de alimentos é considerada uma prática eficaz, limpa e que faz uso da tecnologia nuclear, é um método físico de conservação, assim como o congelamento, refrigeração, pasteurização, entre outros. O processo consiste em submeter o alimento a doses minuciosamente controladas de radiações ionizantes,

como os raios gama. Como principal objetivo, aumentar o tempo de prateleira dos alimentos, uma vez que é comum ocorrer a deterioração durante o período de armazenamento e transporte, devido à reprodução de microrganismos deteriorantes, causando sabores e odores desagradáveis (Mondanez, 2012).

As propriedades organolépticas da maioria dos alimentos irradiados não se alteram, desde que obedecidas às doses de radiação, recomendadas para cada tipo de alimento (Farkas, 2006). FAO, WHO, IAEA, confirmam que a irradiação até 10 kGy não produz quaisquer riscos toxicológicos, problemas nutricionais ou microbiológicos nos alimentos.

A aplicação de técnicas multivariadas como PCA e HCA tem sido frequente para análises de alimentos, a fim de explorar a qualidade dos produtos com base nas suas características físico químicas (Correia e Ferreira, 2007). O objetivo deste trabalho foi avaliar as características físico-químicas, termogravimétricas e microbiológicas da farinha de bagaço de maçã, durante o período de armazenamento, utilizando a quimiometria.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATÉRIA PRIMA

A cultivar de maçã utilizada nesse trabalho foi a Fuji, adquirida no comércio da cidade de Ponta Grossa-PR, safra 2013.

2.2. MÉTODOS

Os métodos utilizados para o desenvolvimento desse trabalho englobam os processos de obtenção, desidratação e irradiação do bagaço de maçã. Após essas etapas, as amostras foram armazenadas para serem analisadas nos tempos 0, 3, 6 e 9 meses, descritas a seguir.

2.2.1. PROCESSOS

2.2.1.1. PROCESSAMENTO DO BAGAÇO DE MAÇÃ

Para a obtenção do bagaço, as maçãs foram selecionadas, lavadas em água clorada a 1%, cortadas e trituradas em moinho de facas, marca Metvisa. A massa ralada foi acondicionada em telas de polietileno, superpostas entre placas de madeira revestidas e prensada a 3 Kg.cm^{-2} em equipamento hidráulico (Hydraulica Press Eureka, Senger), por 15 minutos, para extração do suco e obtenção de um bagaço fresco e úmido (Coelho e Wosiacki, 2010).

O bagaço foi lavado com água em temperatura ambiente, numa proporção 2:1, por 3 vezes para retirada dos sólidos solúveis superficiais, até o líquido de lavagem estabilizar no máximo com 0,2 ° BRIX, em seguida foi centrifugado (Arno classic) por 5 minutos (Paganini *et al.*, 2005; Sato *et al.*, 2011).

Após esse procedimento, foi submetido à desidratação em estufa de circulação e renovação de ar quente (modelo MA 035, marca Marconi, Piracicaba – São Paulo Brasil) com temperatura de 90 °C, conforme protocolo de secagem realizado por Gabriel (2009). Em seguida, moído e peneirado em malha de 60 Mesh, obtendo a farinha de bagaço de maçã – FBM. Ao final, foi armazenada e embalada com aproximadamente 250 gramas de amostra em pequenos sacos de polietileno atóxico com fechamento hermético.

2.2.1.2. IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS

Todas as amostras foram submetidas à irradiação nas doses de 0, 1 e 2 kGy, com taxa de dose de 0,87 kGy/hora. Foi utilizado um irradiador com fonte de Cobalto 60 (GAmmacell 220 Excell – MDS Nordion) localizado no laboratório de Melhoramento de Plantas do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), Campus ESALQ em Piracicaba – SP.

2.2.1.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental foram 3 doses (0, 1 e 2 kGy) x 4 períodos de armazenamento (0, 3, 6 e 9 meses) x 3 repetições. Após a irradiação, a amostra com dose 0 kGy (controle) e as demais (1 e 2 kGy) foram submetidas à primeira etapa das análises (tempo 0). As demais amostras foram armazenadas em temperatura ambiente até o período de cada experimento.

2.3. ANÁLISES

2.3.1. CONTEÚDO DE UMIDADE

O conteúdo de umidade da farinha de bagaço de maçã foi determinado conforme descrito pelo IAL (2008), por método gravimétrico, onde aproximadamente 5 g de amostra foram pesadas em cadinhos de porcelana, submetidos a secagem a 105°C, durante 6 horas ou até peso constante. A análise foi realizada em triplicata e a porcentagem de umidade foi calculada a partir da Equação 1.

$$\% \text{ umidade} = \frac{(P_i - P_f) \times 100}{P_i} \quad (1)$$

Onde: P_i é o peso inicial da amostra e P_f é o peso final da amostra. O resultado foi expresso em $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ (%).

2.3.2. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE ÁGUA

A atividade de água (A_w) da farinha de bagaço de maçã foi determinada utilizando-se o equipamento AQUALAB, série 3B, versão 3,5 (Decagon Devices, Pullman, USA).

2.3.3. CONTEÚDO TOTAL DE CINZAS

O conteúdo total de cinzas da farinha de bagaço de maçã foi determinado conforme descrito em IAL (2008), que representa a quantidade de substâncias inorgânicas, por incineração em mufla, a temperatura de $550 \pm 5^\circ\text{C}$, durante 6 horas. A análise foi realizada em triplicata e a porcentagem de minerais (cinza) foi calculada a partir da Equação 2.

$$\% \text{ cinzas} = \frac{N \times 100}{P} \quad (2)$$

Onde: N é o resíduo mineral em g (cinzas), P é o peso inicial da amostra (g). O resultado foi expresso em $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ (%).

2.3.4. DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS

A composição proteica foi realizada pela determinação de nitrogênio total Kjeldahl, utilizando o processo de digestão semi-micro Kjeldahl, conforme o IAL (2008). Consiste em 3 etapas, a digestão é a primeira, onde a matéria orgânica é decomposta com ácido sulfúrico e uma mistura catalítica (sulfato de cobre e sulfato de potássio), e o nitrogênio é reduzido e transformado em sulfato de amônio. A segunda etapa é a destilação em meio básico por adição de hidróxido de sódio $12,5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ para a

liberação da amônia. Esta foi recolhida em solução de ácido bórico 0,3235 mol.L⁻¹, formando borato de amônio. Este foi quantificado na terceira etapa, por titulação com ácido clorídrico 0,02 mol.L⁻¹. A análise foi realizada em triplicata e o teor de nitrogênio foi determinado a partir da Equação 3.

$$\% N = \frac{V_{HCl} \times C_{HCl} \times FC_{HCl} \times 1,4008}{P} \quad (3)$$

Onde: V_{HCl} é o volume em mL necessário para a titulação, C_{HCl} é a concentração do ácido clorídrico expresso em mol.L⁻¹, FC_{HCl} é o fator de correção do ácido clorídrico. O teor de nitrogênio foi convertido em conteúdo de proteínas. O fator de conversão 6,25 foi multiplicado pelo teor de nitrogênio, segundo a Equação 4. O resultado foi expresso em g.100g⁻¹(%).

$$\%PTN = \% N \times \text{fator de conversão (6,25)} \quad (4)$$

2.3.5. DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

Para o conteúdo de lipídeos totais foi utilizado a extração contínua a quente em aparelho tipo soxhlet, segundo procedimento descrito pelo IAL (2008). Foram pesados 5 g de farinha de bagaço de maçã e colocados em cartuxos de papel filtro, sendo estes acondicionados em tubos extratores. O processo de extração foi realizado em fluxo contínuo por 6 horas, utilizando o solvente hexano, seguido da evaporação do solvente em estufa. A análise foi realizada em triplicata e o conteúdo de lipídeos foi calculado, segundo a Equação 5.

$$\% \text{ lipídeos} = \frac{N \times 100}{P} \quad (5)$$

Onde N é a diferença entre o peso da amostra e o conteúdo presente no balão (g), e o P é o peso inicial da amostra (g). O resultado foi expresso em g.100g⁻¹(%).

2.3.6. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE AÇÚCARES

Para determinar a concentração de açúcares redutores, glucose, frutose e sacarose utilizou-se a metodologia com os reagentes Somogyi e Nelson (1944), na qual

os glicídios redutores são aquecidos em meio alcalino sendo modificados em enodíóis, os quais reduzem o íon cúprico para cuproso. O óxido cuproso formado reduz a reação arsênio-molibídico a óxido de molibdênio de coloração azul, a intensidade de cor é proporcional ao teor de açúcares redutores existentes na amostra (IAL, 2008).

Para o teor de açúcares redutores totais- ART, foram pesados 5 gramas da amostra e adicionados 50 mL de água destilada, essa mistura ficou em agitador magnético por 15 minutos. Após essa etapa foi submetida a aquecimento em temperatura de 65 °C, acrescentando 1 mL de HCL concentrado. Após o resfriamento, foi adicionado NaOH até atingir pH alcalino. Acrescentou-se o volume de água destilada para realizar a diluição da amostra. 1 mL da amostra já diluída foram transferidas para os tubos de Folin-Wu e em seguida, adicionou-se 1 mL do reativo de Somogyi, deixando por 10 minutos em banho-maria com água fervente. Depois de resfriado, adicionou-se 1 mL do reativo de Nelson, completando com água destilada até a marca de 12,5 conforme a indicação dos tubos de Folin-Wu. Após a homogeneização, a absorbância foi medida em espectrofotômetro (Spectrum SP-1105) a 520 nm. A análise foi realizada em triplicata e o teor de ART foi determinado a partir da Equação 6.

$$\% \text{ ART} = \frac{\text{LA} \div \text{FCC} \times \text{DF}}{10000} \quad (6)$$

Onde: LA é a leitura da amostra em absorbância, FCC é o fator da curva de calibração e o DF é a diluição final. O resultado foi expresso em g.100g⁻¹.

Para determinar o teor de açúcares redutores - AR, pesou-se 1 grama da amostra e adicionou-se 25 mL de água destilada, essa mistura foi homogeneizada em agitador magnético por 15 minutos e depois o conteúdo foi centrifugado por 20 minutos, repetindo essa etapa por 2 vezes, e depois realizou-se a diluição necessária. 1 mL da amostra já diluída foram transferidas para os tubos de Folin-Wu e em seguida, adicionou-se 1 mL do reativo de Somogyi, deixando por 10 minutos em banho-maria com água fervente. Depois de resfriado, adicionou-se 1 mL do reativo de Nelson, completando com água destilada até a marca de 12,5 conforme a indicação dos tubos de Folin-Wu. Após a homogeneização, a absorbância foi medida em espectrofotômetro (Spectrum SP-1105) a 520 nm. A análise foi realizada em triplicata e o teor de AR foi determinado a partir da Equação 7.

$$\% \text{ AR} = \frac{\text{LA} \div \text{FCC} \times \text{DF}}{10000} \quad (7)$$

Onde: LA é a leitura da amostra em absorbância, FCC é o fator da curva de calibração, e o DF é a diluição final. O resultado foi expresso em $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$.

Para determinar o teor de glucose foi utilizado um método enzimático colorimétrico no qual a glucose oxidase – GOD catalisa a oxidação da glucose para ácido glicônico e peróxido de hidrogênio. A amostra que foi utilizada para determinação de AR, com a mesma diluição também foi utilizada para determinar a glucose. Em um tubo de ensaio, adicionou-se 1 mL da amostra, junto com 1 mL de água destilada e 1 mL de reativo de GOD. Esta solução foi homogeneizada e aquecida durante 20 minutos a 40 °C em banho-maria. Para aferição do padrão, o mesmo foi diluído a 50 µg. A absorbância foi medida em espectrofotômetro (Spectrum SP-1105) a 520 nm. A análise foi realizada em triplicata e o teor de glucose foi determinado a partir da Equação 8.

$$\% \text{ glucose} = \frac{\text{LA} \times \text{CP} \times \text{DF}}{\text{LP}} \div 10000 \quad (8)$$

Onde: LA é a leitura da amostra em absorbância, CP é a concentração do padrão, DF é a diluição final e LP é a leitura do padrão. O resultado foi expresso em $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$.

Para calcular os teores de frutose e sacarose, utilizou-se:

Frutose = açúcar redutor – glucose

Sacarose = açúcar redutor total – açúcar redutor

2.3.7. DETERMINAÇÃO DE FIBRA ALIMENTAR

Para análise de fibra alimentar utilizou-se o kit enzimático (Megazyme), que permite separar e quantificar gravimetricamente o conteúdo total de fibra alimentar (IAL 2008). O primeiro passo foi realizado o procedimento para medir os brancos com os mesmos reagentes utilizados para a determinação de fibra alimentar.

Aproximadamente 1 g da amostra foi pesada em um béquer de 500 mL, adicionou-se 50 mL de uma solução tampão de fosfato de sódio 0,08M em pH 6,0. A primeira etapa foi realizada com a adição da enzima α -amilase, em banho-maria a 60 °C sob agitação por 5 minutos. Em seguida as amostras foram incubadas por 15 minutos a 95°C. Após o resfriamento em temperatura ambiente, o pH da solução foi ajustado para

7,5 ± 0,2 com hidróxido de sódio 0,275 N. A segunda etapa foi realizada com a adição da enzima protease, em banho-maria a 60 °C sob agitação por 60 minutos. Após o resfriamento em temperatura ambiente, o pH da solução foi ajustado para 4,0 ± 0,2 com ácido clorídrico 0,325 M. A terceira etapa foi realizada com a adição da enzima amiloglucosidase, em banho-maria a 60 °C sob agitação por 60 minutos. Após o resfriamento em temperatura ambiente, foram adicionados em cada béquer contendo as amostras, etanol 95% para precipitação do material.

Após a precipitação das fibras, a solução foi filtrada em cadinho de fundo poroso, e o material fibroso presente nesses cadinhos foi levado à estufa a 105 °C. As amostras de farinha de bagaço de maçã e os brancos foram determinados em quadriplicata, sendo duas para proteína e duas para cinzas. O conteúdo de fibra alimentar foi calculado, segundo a Equação 9.

$$\% \text{ Fibra alimentar} = (\text{Resíduo} - \text{cinzas} - \text{proteínas} - \text{B/PM}) \times 100 \quad (9)$$

Onde: O resíduo é o material fibroso presente no cadinho após secagem em estufa (g), B é o branco e PM é o peso médio das amostras (g). O resultado foi expresso em g.100g⁻¹.

2.3.8. DETERMINAÇÃO DE PECTINA

A determinação de pectina, foi realizada segundo a metodologia proposta por Fertoni *et al.* (2006) com modificações, onde se utilizou 5g de farinha de bagaço de maçã adicionado de água destilada e ácido nítrico (55 mmol/L), 1:1 (v/v), aquecidos a 97°C por 15 minutos. Essa solução foi resfriada em banho de gelo e filtrada em tecido sintético, adicionou-se etanol 95 % 2:1 (v/v), para precipitação da pectina, que foi mantida em estufa de circulação e renovação de ar (modelo MA 035, marca Marconi, Piracicaba – São Paulo Brasil) a 40° C por 5 horas. A análise foi realizada em triplicata e o teor de pectina foi calculado, segundo a Equação 10.

$$\% \text{pectina} = \frac{N \times 100}{P} \quad (10)$$

Onde N é a diferença entre o peso da amostra e o peso da placa de petri, P é o peso inicial da amostra (g), e o P é o peso inicial da amostra (g). O resultado foi expresso em g.100g⁻¹.

2.3.9. DETERMINAÇÃO DE MINERAIS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA DE CHAMA

Aproximadamente 1g de farinha de bagaço de maçã foi adicionado em tubos de digestão, em seguida as amostras foram digeridas (Marconi BTC-9090) com 10 mL $\text{HClO}_4 - \text{HClO}_3$ (1:4) em temperatura até 225°C, conforme descrito por Nogueira *et al.* (2007). As amostras digeridas foram diluídas com água ultra pura até o volume de 50 mL. As leituras foram realizadas no Espectrômetro de Absorção Atômica de Chama (Varian 240FS), utilizando como acessório o sistema diluidor automático SIPS, equipado com lâmpada de deutério como corretor de fundo e lâmpadas de cátodo oco multielementares. Utilizou-se chama oxidante de ar/acetileno, com fluxo de 13,5L min⁻¹ e 2,0L min⁻¹, respectivamente.

Para o preparo das soluções padrão utilizou-se sódio (Na) e potássio (K) a partir dos sais (Merk), para os metais cobre (Cu), manganês (Mn), zinco (Zn), ferro (Fe), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e cromo (Cr) utilizou-se as soluções estoque de 1000 mg L⁻¹ (Qhemis High Purity). Para os metais Ca, Mg, Na e K realizou-se uma solução de Óxido de Lantânio 5,1 g L⁻¹. As curvas analíticas foram construídas a partir desses padrões, em concentrações que variaram de 1,0 mg L⁻¹ a 10,0 mg L⁻¹. Os resultados foram expressos em (mg.100g⁻¹).

2.3.10. ANÁLISES TÉRMICAS: TERMOGRAVIMETRIA (TG) E ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL (DTA)

Para a obtenção de TG e DTA, utilizou-se o equipamento TGA-50 (Shimadzu, Japão). Aproximadamente 7,0 mg de cada amostra foram acondicionadas em micro cadinhos de alfa-alumina ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$) aberto, pré-tarados em termobalança do equipamento. Foram realizadas em atmosfera de ar sintético a uma vazão de 100 mL min⁻¹, com razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, em temperatura inicial de 10 °C e temperatura final de 650 °C.

As porcentagens dessa perda de massa foram determinadas pelo software TA-60 WS, e para obter as curvas de termogravimetria derivada (DTG) foi utilizado o software Origin (8.0). As análises foram realizadas na primeira e última etapa da pesquisa.

2.3.11. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA – MEV

As amostras foram fixadas em porta-amostras, foram submetidas à técnica de metalização (deposição de metais condutores), na câmara metalizadora SHIMADZU IC – 50 ÍON COATER, onde as amostras foram cobertas com uma fina camada de ouro em ambiente a vácuo, por 5 minutos. Após preparadas, os dados das microanálises foram coletados no microscópio eletrônico de varredura SHIMADZU – SSX 550. As análises foram realizadas na primeira e última etapa da pesquisa. As imagens mais representativas de cada amostra foram selecionadas para ilustrar as diferenças entre elas.

2.3.12. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

A fim de avaliar a qualidade microbiológica da farinha de bagaço de maçã, foram realizadas as seguintes análises: Coliformes a 45°C, Salmonella, bolores e leveduras, as quais estão previstas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, da Resolução da Diretoria Colegiada nº 12 – RDC 12 (BRASIL, 2001). Esta RDC estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos, porém, não existem padrões específicos para a farinha de bagaço de maçã. Neste trabalho a amostra foi inserida no grupo de alimentos designados para “produtos de frutas desidratadas” cuja tolerância máxima para amostra indicativa é de 10^2 NMP.g⁻¹ ou UFC.g⁻¹ de coliformes a 45 °C e ausência de *salmonella sp.* em 25 gramas. Análises de bolores e leveduras não são exigidos para “produtos de frutas desidratadas”. No entanto, para explorar os efeitos da irradiação, essas análises foram investigadas, onde a tolerância máxima para amostra indicativa é de 10^4 UFC.g⁻¹.

Para a identificação de possíveis bolores presentes na amostra foi realizada através do preparo de lâmina, obtida a partir das placas usadas para contagem de bolores e leveduras. As lâminas foram coradas com fucsina ácida e a estrutura dos bolores foi avaliada em microscópio OLYMPUS BX40 com sistema de fotomicrografia Pm-10AK3 Olympus. As análises foram realizadas em triplicata na primeira e última etapa da pesquisa.

2.3.13. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão, as médias foram comparadas pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). Uma abordagem quimiométrica composta por análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA), foi utilizada para as análises físico-químicas. Todos os resultados foram previamente autoescalados para padronizar a importância estatística de todas as variáveis. Em seguida, uma matriz de amostras ($n = 36$) e variáveis de resposta ($n = 17$) foi construída, as amostras como linhas e variáveis como colunas, totalizando 612 pontos de dados.

Para a HCA, as similaridades das amostras e da variáveis foram calculadas com base na distância euclidiana e o método hierárquico aglomerativo Ward foi usado para agrupar as amostras (Granato *et al.*, 2013). A fim de comparar os resultados entre os grupos formados, o teste de Levene foi realizado para verificar a homogeneidade das variâncias, enquanto a análise unifatorial de variância (ANOVA) e o teste de médias de Fisher foram então aplicados para identificar diferenças entre os grupos. Para as variáveis que apresentaram dados não-paramétricos ($p < 0,05$), foi utilizado a comparação múltipla de Kruskal-Wallis (Zielinski, A. *et al.*, 2014).

A PCA foi aplicada para separar as amostras de acordo com as análises físico-químicas. Os resultados obtidos para cada um dos parâmetros foram adaptados como colunas e as amostras como linha. Foram adotados valores próprios superiores a 1,0 para explicar a projeção das amostras no gráfico e análise bidimensional foi baseada em correlações lineares (Granato *et al.*, 2011). Para análise estatística foi utilizado o software STATISTICA 7.0 (Stat-Soft Inc., Tulsa, OK, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA E DO ARMAZENAMENTO NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS UTILIZANDO TÉCNICAS MULTIVARIADAS

Os resultados das análises físico-químicas encontrados na tabela 1, da amostra controle (dose 0 no tempo 0 meses), são semelhantes as pesquisas realizadas com o bagaço desidratado de maçã (Paganini *et al.*, 2005; Momm, 2007; Sudha *et al.*, 2007; Soares, M. *et al.*, 2008; Fertoni *et al.*, 2009; Coelho e Wosiacki, 2010; Sato *et al.*, 2010; Dhillon *et al.*, 2012; Gassara *et al.*, 2012; Geus, 2012). O bagaço de maçã é constituído por grandes quantidades de açúcares, fibras e compostos fenólicos e pequenas quantidades de lipídeos, proteínas, vitaminas e minerais (Wang *et al.*, 2007).

Tabela 1: Efeitos da radiação gama nas características físico-químicas da farinha de bagaço de maçã durante o período de armazenamento

Análises	Doses (kGy)	Tempo (meses)			
		0	3	6	9
Umidade (g.100g ⁻¹)	0	5,66±0,04 ^d	7,87±0,51 ^{ABC}	9,59±0,38 ^b	11,52±0,76 ^a
	1	5,53±0,25 ^d	6,75±0,44 ^{Bc}	8,52±1,00 ^b	11,50±0,17 ^a
	2	5,87±0,05 ^c	8,46±0,66 ^{Ab}	9,37±0,73 ^b	11,82±0,25 ^a
Proteína (g.100g ⁻¹)	0	4,49±0,05 ^{AA}	3,05±0,01 ^{Bb}	3,68±0,55 ^b	3,42±0,65 ^b
	1	3,90±0,58 ^{AB}	4,00±0,37 ^A	3,77±0,31	3,54±0,40
	2	3,42±0,19 ^B	3,59±0,06 ^A	4,15±0,56	3,85±0,49
Lipídeos (g.100g ⁻¹)	0	1,96±0,15	1,95±0,40	1,84±0,47	1,73±0,42
	1	1,75±0,13	1,64±0,48	1,63±0,47	1,67±0,19
	2	1,90±0,12	1,97±0,05	1,78±0,26	1,75±0,31
Açúcares Redutores Totais – ART (g.100g ⁻¹)	0	37,60±0,50 ^{AB}	37,54±0,50	37,79±0,17	37,53±0,55
	1	37,23±0,77 ^B	38,00±0,79	38,06±0,44	37,34±0,51
	2	38,36±0,04 ^A	37,66±1,25	38,35±0,27	37,96±0,05
Açúcares Redutores – AR (g.100g ⁻¹)	0	27,36±0,27 ^a	26,50±0,47 ^b	26,80±0,14 ^{ab}	26,56±0,31 ^b
	1	26,61±1,01	26,71±0,57	26,62±0,50	26,68±0,48
	2	27,59±0,42 ^a	26,65±0,44 ^b	26,89±0,62 ^{ab}	26,46±0,40 ^b
Glucose – GOD (g.100g ⁻¹)	0	7,82±0,22 ^a	6,73±0,43 ^{ABD}	6,88±0,41 ^{ABb}	6,56±0,57 ^{BD}
	1	7,86±0,17 ^a	6,52±0,05 ^{Bb}	6,47±0,14 ^{Bb}	6,34±0,29 ^{Bb}
	2	8,02±0,00 ^a	7,16±0,10 ^{Ac}	7,35±0,09 ^{Abc}	7,42±0,16 ^{Ab}
Sacarose (g.100g ⁻¹)	0	10,24±0,61	11,04±0,54	10,99±0,24	10,97±0,36
	1	10,61±0,31	11,29±1,36	11,44±0,18	10,67±0,59
	2	10,77±0,41	11,01±0,88	11,46±0,57	11,50±0,45
Frutose (g.100g ⁻¹)	0	19,54±0,48	19,77±0,82	19,92±0,38	20,00±0,87
	1	18,75±1,18	20,19±0,56	20,15±0,64	20,34±0,74
	2	19,57±0,42	19,49±0,35	19,55±0,65	19,04±0,54
Fibra Alimentar (g.100g ⁻¹)	0	50,01±1,47 ^{AA}	49,30±0,55 ^a	47,27±1,18 ^b	47,27±0,45 ^b
	1	46,05±1,38 ^B	46,05±1,61	46,65±0,36	45,98±0,56
	2	45,46±1,15 ^B	45,46±1,75	46,25±0,24	46,26±0,58
Pectina (g.100g ⁻¹)	0	14,15±0,07 ^a	14,16±1,17 ^a	12,27±0,30 ^b	12,04±0,21 ^b
	1	14,33±1,02 ^a	14,47±0,56 ^a	12,44±0,29 ^b	12,13±0,48 ^b
	2	14,59±0,71 ^a	14,53±0,81 ^a	11,84±0,34 ^b	11,51±0,58 ^b

Nota - Resultados expressos como média±desvio-padrão; Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as doses; Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa durante o armazenamento; As diferenças significativas em nível de 5% foram realizadas pelo teste de Duncan.

Com relação a análise de umidade, a farinha de bagaço de maçã variou de 5,53 (dose 1 kGy no tempo 0 meses) a 11,82 g.100g⁻¹ (dose 2 kGy no tempo 9 meses). A partir do tempo 0 de armazenamento houve um aumento em todas as amostras, o que pode estar associado ao caráter higroscópico das farinhas e sua consequente tendência a responder às variações da umidade relativa do ambiente, bem como as propriedades de transferência de vapor de água do material da embalagem (Silva *et al.*, 2010).

Resultados semelhantes foram encontrados por Silva *et al.* (2010), ao avaliar a estabilidade oxidativa em farinha de trigo e fubá irradiados, que observaram a partir do primeiro mês um aumento significativo de umidade nas amostras. Marathe *et al.* (2002), verificaram que a umidade de farinha de trigo irradiadas e não irradiadas, aumentaram após três meses de armazenamento. Sendo assim, é possível verificar que a irradiação não influenciou nos resultados da umidade, mas sim o período em que ficou armazenada.

Sato *et al.* (2010) avaliaram onze cultivares distintas de bagaço desidratado de maçã sendo que o teor de proteína variou de 3,75 a 4,65 g.100g⁻¹. Nesta pesquisa, os resultados oscilaram de 3,05 (dose 0 kGy no tempo 3 meses) a 4,49 g.100g⁻¹ (dose 0 kGy no tempo 0 meses). Para os teores de lipídeos variou entre 1,63 (dose 1 kGy no tempo 6 meses) a 1,97 g.100g⁻¹ (dose 2 kGy no tempo 3 meses), Dhillon *et al.* (2012) encontraram entre 1,20 a 3,90 g.100g⁻¹ em bagaço de maçã industrial. Neste trabalho, a radiação gama e o armazenamento (p>0,05) não influenciaram nos teores de lipídeos, resultados semelhantes foram encontrados em outros produtos, como a farinha de trigo, fubá e arroz (Zanão *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2010). Para os valores de proteína, as doses irradiadas apresentaram teores menores quando comparadas a amostra controle no tempo 0, porém se mantiveram estáveis durante o armazenamento.

Conforme Paganini *et al.* (2005), o bagaço de maçã, enquanto úmido, apresenta 14% de sólidos solúveis, entre glucose, frutose e sacarose, que podem propiciar uma deterioração rápida do material, quando não estabilizado. Em trabalho realizado por Geus (2012), com o bagaço de maçã Fuji, foram obtidos 35,16 g.100g⁻¹ de ART, 29,17 g.100g⁻¹ de AR, 5,30 g.100g⁻¹ de glucose, 5,99 g.100g⁻¹ de sacarose e 23,26 g.100g⁻¹ de frutose.

Em comparação com esses resultados, os valores de ART oscilaram entre 37,23 (dose 1 kGy no tempo 0 meses) a 38,36 g.100g⁻¹ (dose 2 kGy no tempo 0 meses), AR variou entre 26,46 (dose 2 kGy no tempo 9 meses) a 27,59 g.100g⁻¹ (dose 2 kGy no tempo 0 meses), glucose entre 6,34 (dose 1 kGy no tempo 9 meses) a 8,02 g.100g⁻¹ (dose 2 kGy no tempo 0 meses), sacarose variou entre 10,24 (dose 0 kGy no tempo 0

meses) a $11,50 \text{ g.100g}^{-1}$ (dose 2 kGy no tempo 9 meses) e a frutose entre 18,75 (dose 1 kGy no tempo 0 meses) a $20,34 \text{ g.100g}^{-1}$ (dose 1 kGy no tempo 9 meses).

No presente trabalho, a radiação gama e o tempo de armazenamento não influenciaram ($p>0,05$) nos teores de sacarose e frutose. Os Açúcares Redutores Totais se mantiveram estáveis e a dose de 2 kGy apresentou maior teor no tempo 0. Os Açúcares Redutores não foram influenciados pela irradiação e a dose de 1 kGy se manteve estável durante o período de armazenamento. A glucose se manteve estável a partir do terceiro mês, e os maiores teores foram encontrados na dose de 2 kGy.

Fernandes *et al.* (2011), realizaram um extensivo estudo em açúcares individuais (frutose, glucose, sacarose, trealose e rafinose) em castanhas, de modo a compreender o efeito de radiação (doses de 0,27 e 0,54 kGy), onde concluíram que, independente da dose, não ocorreram alterações significativas nos teores de açúcares mas o tempo de armazenamento reduziu a quantidade de açúcares totais.

Em pesquisa desenvolvida por Pirmohammadia *et al.* (2007), a concentração de fibras em amostra de bagaço de maçã com uma mistura de cultivares, foi de $47,3 \text{ g.100g}^{-1}$. Parmar e Rupasinghe (2012), encontraram $44,9 \text{ g.100g}^{-1}$ em bagaço proveniente de suco industrial. Geus (2012) encontrou $52,33 \text{ g.100g}^{-1}$ para bagaço industrial e $39,20 \text{ g.100g}^{-1}$ para bagaço laboratorial. Neste trabalho, o teor de fibras variou de 45,46 (dose 2 kGy no tempo 0 e 3 meses) a $50,01 \text{ g.100g}^{-1}$ (dose 0 kGy no tempo 0 meses). Os teores de fibra alimentar nas amostras irradiadas permaneceram estáveis durante o armazenamento. Contudo, os valores analisados na primeira etapa, foram menores de forma significativa ($p<0,05$) quando comparadas a amostra controle.

Quanto ao teor de pectina os resultados foram de 11,51 (dose 2 kGy no tempo 9 meses) a $14,59 \text{ g.100g}^{-1}$ (dose 2 kGy no tempo 0 meses). Dhillon *et al.* (2013) citam que a pectina pode oscilar de 3,5 a $14,32 \text{ g.100g}^{-1}$ e Fertoni *et al.* (2009) alcançaram um rendimento gravimétrico de $19,02 \text{ g.100g}^{-1}$. A radiação gama, não influenciou nos teores de pectina ($p>0,05$), porém, no período de 6 meses ocorreu uma perda significativa ($p<0,05$) em todas as amostras.

De acordo com Pirmohammadia *et al.* (2007), algumas particularidades influenciam diretamente no valor nutritivo do bagaço de maçã, por ser um material muito heterogêneo, como o tipo de cultivar utilizada para o processamento, práticas agrícolas e maturação do fruto, bem como a metodologia de extração do suco. As fibras são consideradas o fitoquímico de maior relevância nessa matéria-prima, pois além de ser encontrado em grandes quantidades, também permite diferentes aplicações (Vendruscolo *et al.*, 2009).

Oliveira *et al.* (2006) e Nogueira *et al.* (2007) citam que o teor de minerais no bagaço de maçã prensado é baixo, isso ocorre devido ao processamento adequado das frutas, acarretando lixiviação dos minerais para o suco, produto derivado da maçã, conferindo qualidade a essa bebida. A tabela 2 apresenta o conteúdo de minerais que foram encontrados na farinha de bagaço de maçã.

De acordo com o protocolo oficial (IAL, 2008), as cinzas representam o teor de minerais contidos nos alimentos. A concentração de minerais da farinha de bagaço de maçã variou de 1,51 g.100g⁻¹ (dose 0 kGy nos tempos 3 e 6 meses) a 1,83 g.100g⁻¹ (dose 1 kGy no tempo 6 meses).

Tabela 2: Efeitos da radiação gama nos minerais da farinha de bagaço de maçã durante o período de armazenamento

Minerais	Doses (kGy)	Tempo (meses)			
		0	3	6	9
Cinzas (g.100g ⁻¹)	0	1,78±0,07	1,51±0,11	1,51±0,30	1,69±0,08
	1	1,65±0,10 ^{ab}	1,63±0,13 ^b	1,83±0,12 ^a	1,76±0,01 ^{ab}
	2	1,67±0,09	1,63±0,12	1,74±0,20	1,71±0,03
Potássio – K (mg.100g ⁻¹)	0	242,73±2,18 ^{Aa}	231,62±3,42 ^{ABb}	236,63±4,43 ^{Aab}	222,52±3,28 ^{Bc}
	1	238,04±2,05 ^{Ab}	240,05±3,07 ^{Aab}	242,73±4,08 ^{Aa}	238,67±3,51 ^{Aab}
	2	227,49±1,65 ^B	227,19±3,05 ^B	228,86±3,34 ^B	225,66±5,17 ^B
Zinco – Zn (mg.100g ⁻¹)	0	1,44±0,36 ^A	1,22±0,46	0,96±0,15 ^A	1,12±0,02
	1	1,03±0,13 ^{AB}	1,01±0,20	1,04±0,18 ^A	0,93±0,06
	2	0,78±0,14 ^B	0,78±0,11	0,79±0,09 ^B	0,76±0,05
Ferro – Fe (mg.100g ⁻¹)	0	3,33±0,09 ^A	3,13±0,17 ^A	3,19±0,13 ^A	3,10±0,06 ^A
	1	1,77±0,01 ^B	1,33±0,34 ^B	1,63±0,01 ^B	1,70±0,02 ^B
	2	1,91±0,41 ^B	1,81±0,27 ^B	1,87±0,42 ^B	1,91±0,41 ^{AB}
Cálcio – Ca (mg.100g ⁻¹)	0	76,00±1,60 ^C	76,67±1,51 ^C	74,77±1,00 ^C	74,13±1,00 ^C
	1	107,55±1,67 ^{Ab}	116,58±1,40 ^{Aa}	117,65±2,81 ^{Aa}	117,35±2,04 ^{Aa}
	2	84,13±2,61 ^{Bb}	105,22±3,00 ^{Ba}	102,22±1,96 ^{Ba}	102,86±2,53 ^{Ba}
Manganês – Mn (mg.100g ⁻¹)	0	0,69±0,15	0,69±0,13	0,72±0,13	0,70±0,14
	1	0,76±0,12	0,71±0,10	0,76±0,12	0,71±0,11
	2	0,63±0,16	0,51±0,11	0,56±0,07	0,57±0,06
Magnésio – Mg (mg.100g ⁻¹)	0	92,84±2,02 ^{ABa}	83,21±2,72 ^{Ab}	83,77±1,57 ^{Ab}	75,23±1,00 ^{Ac}
	1	99,80±1,00 ^{Aa}	64,42±2,00 ^{Cc}	70,67±1,00 ^{Bb}	64,32±0,99 ^{Bc}
	2	89,93±2,30 ^{Ba}	77,67±1,00 ^{Bb}	77,60±1,00 ^{ABb}	76,00±2,00 ^{Ab}

Nota - Resultados expressos como média±desvio-padrão; Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as doses; Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa durante o armazenamento; As diferenças significativas em nível de 5% foram realizadas pelo teste de Duncan.

A espectrometria de absorção atômica é a mais utilizada para determinar elementos em baixas concentrações. Utiliza o princípio de que átomos livres (estado gasoso) gerados em um atomizador capazes de absorver radiação de frequência específica que é emitida por uma fonte espectral do elemento que está sendo utilizado. A transformação do analito, presente na amostra, em átomos livres é proporcionada

pela utilização de diferentes tipos de atomizadores. Os atomizadores mais utilizados na absorção atômica são: uma chama formada pela combinação de diferentes combustíveis/oxidantes e o forno de grafite. Os modos distintos de se produzir o vapor atômico (atomização) a partir da amostra são os que definem as técnicas de absorção atômica, chama e forno de grafite (Skoog *et al.*, 2002).

Ao avaliar os teores de minerais no bagaço desidratado de maçã, Geus (2012) encontrou 282 mg.100g⁻¹ de K, 131 mg.100g⁻¹ de Ca e 93 mg.100g⁻¹ de Mg. Dhillon *et al.* (2012) quantificou 1,50 mg.100g⁻¹ de Zn e entre 3,18 a 3,83 mg.100g⁻¹ de Fe. Parmar e Rupasinghe (2012) encontraram pequenas quantidades de Mn, Cu, Zn e Na e relataram que o teor mineral dessa matéria-prima é importante para processo de bioconversão para meios de fermentação e para nutrição de microrganismos.

O K é encontrado em maiores concentrações (Dhillon *et al.*, 2012). Isso ocorre devido às intensas adubações de K nos pomares de maçã, uma vez que a sua deficiência no solo resulta em frutos pequenos, com menores teores de ácidos e cor vermelha menos intensa na colheita (Hunsche *et al.*, 2003). O valor de K entre as amostras estudadas variou de 225,66 mg.100g⁻¹ (dose 2 kGy no tempo 9 meses) a 242,73 mg.100g⁻¹ (dose 0 kGy no tempo 0 meses). A amostra com dose de 2 kGy foi estável durante todo o período da pesquisa, porém, apresentou menores teores deste mineral.

Os valores encontrados para o mineral Zn foi de 0,76 mg.100g⁻¹ (dose 2 kGy no tempo 9 meses) a 1,44 mg.100g⁻¹ (dose 0 kGy no tempo 0 meses). Os teores do mineral Fe variaram de 1,33 mg.100g⁻¹ (dose 1 kGy no tempo 3 meses) a 3,33 mg.100g⁻¹ (dose 0 kGy no tempo 0 meses). Os minerais Zn e Fe apresentaram comportamentos semelhantes, permaneceram estáveis durante o armazenamento, e as amostras controles obtiveram teores mais elevados em relação às amostras irradiadas (p<0,05).

O teor de Ca entre as amostras estudadas variou de 74,13 mg.100g⁻¹ (dose 0 kGy no tempo 9 meses) a 117,65 mg.100g⁻¹ (dose 1 kGy no tempo 6 meses). As amostras irradiadas foram maiores de forma significativa (p<0,05), quando comparadas a amostra controle. O Mn variou entre 0,51 mg.100g⁻¹ (dose 2 kGy no tempo 3), a 0,76 mg.100g⁻¹ (dose 1 kGy no tempo 0 meses), manteve-se estável durante o armazenamento e os teores foram semelhantes em todas as amostras. O Mg oscilou entre 64,32 mg.100g⁻¹ (dose 1 kGy no tempo 9 meses) a 99,80 mg.100g⁻¹ (dose 1 kGy no tempo 0 meses), os teores das amostras irradiadas e o tempo de prateleira foram diferentes significativamente (p<0,05).

Poucos são os estudos que analisam o comportamento da radiação gama sobre os minerais em alimentos e a estabilidade destes durante o armazenamento. Brigide *et al.* (2011) e Martinez (2011) verificaram que os minerais encontrados no feijão carioca não eram influenciados pelo tratamento de irradiação. Hassan *et al.* (2013) estudaram o efeito da irradiação gama sobre a disponibilidade de Ca, P e Fe de dois cultivares de amendoim, com doses de 1,0, 1,5 e 2,0 kGy, resultando em um aumento gradual, em que a disponibilidade de minerais foi maior com o aumento da dose de radiação.

Para melhor visualização do conjunto de dados, avaliar as inter-relações e verificar as semelhanças entre as amostras da farinha de bagaço de maçã durante o período de armazenamento, a análise hierárquica de agrupamentos (HCA) e a análise de componentes principais (PCA) foram aplicadas para as variáveis físico-químicas.

O dendrograma da figura 1 apresenta a similaridade entre as amostras estudadas de acordo com suas características físico-químicas, três grupos foram sugeridos pela HCA.

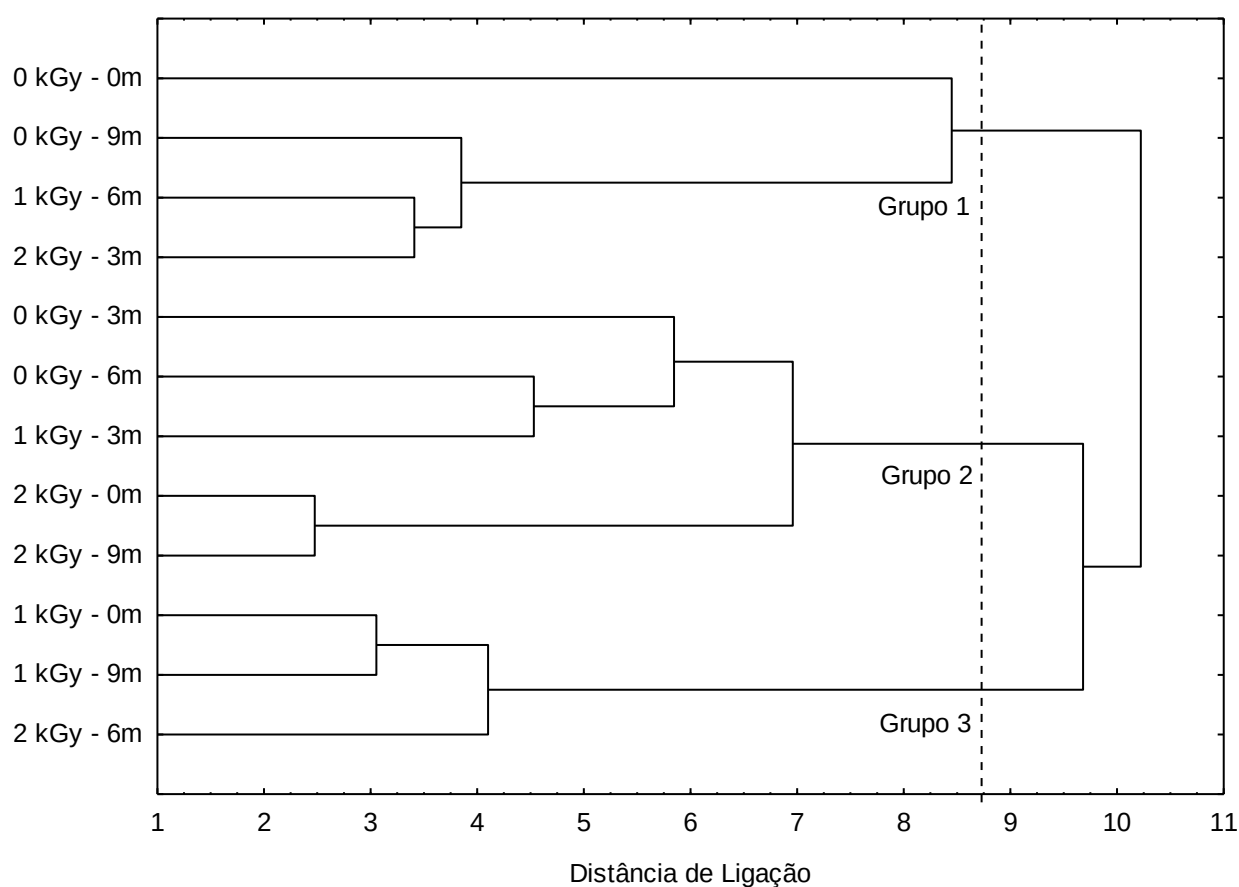


Figura 1: Análise Hierárquica de Agrupamentos aplicada as amostras de FBM durante o período de armazenamento de acordo com suas características físico-químicas

Na tabela 3, as médias de cada variável de resposta foram comparadas, e os resultados da ANOVA para os grupos obtidos no HCA foram calculados. Apenas as variáveis cinzas e Ca tiveram diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

O grupo 1 obteve maiores valores nos parâmetros de lipídeos, frutose, fibra alimentar, cinzas e Zn. O grupo 2 apresentou maiores teores em Açúcares Redutores Totais, sacarose, e pectina. O grupo 3 obteve maiores valores para umidade, proteína, Glucose, K, Ca, Mn e Mg.

Tabela 3: Resultados (médias) das análises físico-químicas, sugeridos na Análise Hierárquica de agrupamento (HCA)

Variáveis	Grupo 1 n= 4	Grupo 2 n=5	Grupo 3 n=3	DPM	p-valor Levene	p-valor Anova/ Kruskall – Wallis
Umidade (g.100g ⁻¹)	8,54	8,38	8,80	2,30	0,65	0,91
Proteína (g.100g ⁻¹)	3,82	3,60	3,87	0,37	0,89	0,38
Lipídeos (g.100g ⁻¹)	1,88	1,82	1,73	0,16	0,19	0,58
Açúcares Redutores Totais – ART (g.100g ⁻¹)	37,71	37,93	37,64	0,36	0,11	0,46
Açúcares Redutores – AR (g.100g ⁻¹)	26,80	26,81	26,73	0,34	0,47	0,93
Glucose – GOD (g.100g ⁻¹)	7,00	7,11	7,18	0,59	0,92	0,80
Sacarose (g.100g ⁻¹)	10,91	11,12	10,91	0,38	0,75	0,64
Frutose (g.100g ⁻¹)	19,79	19,70	19,55	0,47	0,14	0,74
Fibra Alimentar (g.100g ⁻¹)	47,35	46,87	46,09	1,44	0,10	0,23
Pectina (g.100g ⁻¹)	13,29	13,40	12,77	1,24	0,56	0,51
Cinzas (g.100g ⁻¹)	1,73 ^a	1,60 ^b	1,72 ^{ab}	0,10	0,69	<0,05*
Potássio – K (mg.100g ⁻¹)	233,71	232,29	235,19	7,05	<0,05	0,60
Zinco – Zn (mg.100g ⁻¹)	1,09	0,95	0,92	0,20	<0,05	0,53
Ferro – Fe (mg.100g ⁻¹)	2,47	2,29	1,78	0,73	0,34	0,14
Cálcio – Ca (mg.100g ⁻¹)	93,25 ^b	91,00 ^b	109,04 ^a	17,82	<0,001	<0,05*
Manganês – Mn (mg.100g ⁻¹)	0,66	0,66	0,68	0,08	0,78	0,95
Magnésio – Mg (mg.100g ⁻¹)	79,10	79,47	80,58	10,88	0,07	0,95

Nota – DPM: desvio padrão médio; *significativo a 95% de confiança; letras diferentes na mesma linha indicam diferença nas amostras.

Com os grupos sugeridos na HCA, é possível afirmar que os parâmetros físico-químicos, de uma forma geral, não foram influenciados pelo efeito da radiação gama durante o período de armazenamento.

A PCA demonstrada na Figura 2 é referente à representação gráfica bidimensional das amostras de farinha de bagaço de maçã. As componentes principais 1 (PC1, autovalor 5,48) e 2 (PC2, autovalor 3,40) explicaram 52,26% da variância dos dados.

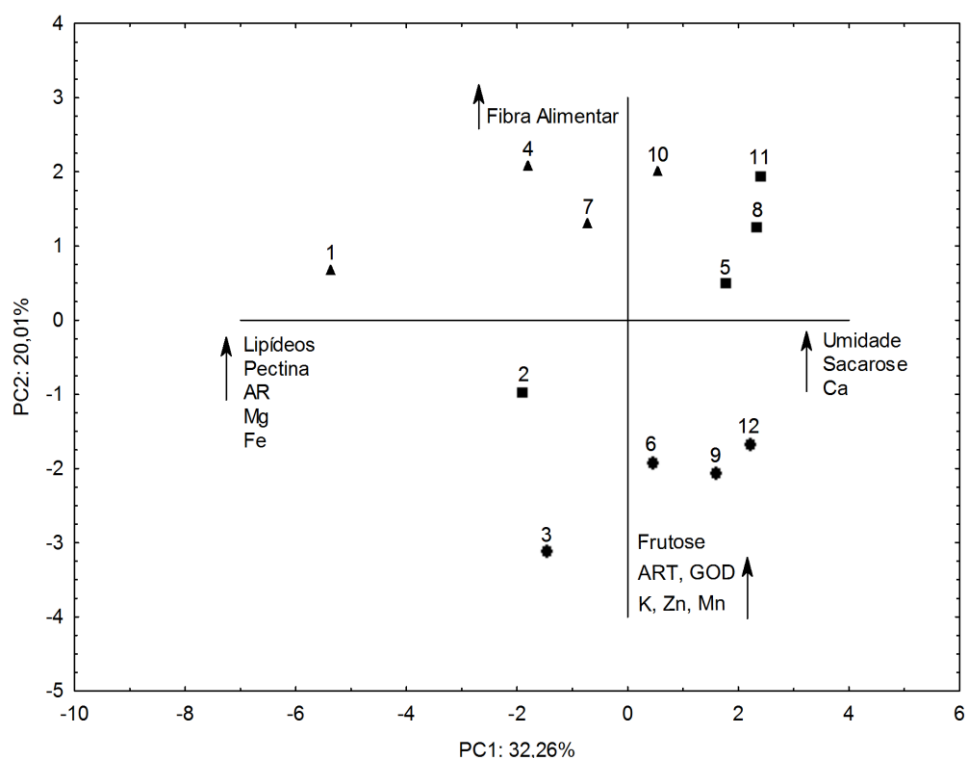


Figura 2: Gráficos de escores da PC1 x PC2 das amostras de FBM em relação às análises físico-químicas durante o período de armazenamento. Amostras: 1 (0 kGy – 0 meses), 2 (1 kGy – 0 meses), 3 (2 kGy – 0 meses), 4 (0 kGy – 3 meses), 5 (1 kGy – 3 meses), 6 (2kGy – 3 meses), 7 (0 kGy – 6 meses), 8 (1 kGy – 6 meses), 9 (2 kGy – 6 meses), 10 (0 kGy – 9 meses), 11 (1 kGy – 9 meses), 12 (2 kGy – 9 meses)

Na área a esquerda da PC1 encontram-se amostras com maiores teores de lipídeos, pectina, AR, Mg e Fe, ao lado direito as amostras com maior concentração de umidade, sacarose e Ca. Em relação a PC2, a área superior concentrou as amostras com maiores teores de fibra alimentar. Na área inferior localizaram-se as amostras com maior teor de frutose, ART, GOD, K, Zn e Mn.

As amostras controle (0kGy), em todos os tempos, codificadas como (1, 4, 7 e 10) foram localizadas no primeiro e segundo quadrante (parte superior), as amostras com 1 kGy (2, 5, 8 e 11) no primeiro e terceiro quadrante e as amostras com 2 kGy (3, 6, 9 e 12) no terceiro e quarto quadrante. Neste sentido, é possível supor que a PCA foi

uma abordagem adequada para verificar as diferenças entre as amostras durante o armazenamento da farinha de bagaço de maçã.

3.2. PERFIL TERMOGRAVIMÉTRICO

Termogravimetria (TG) é uma técnica analítica que mede a variação da massa de uma amostra em função da variação de temperatura ou tempo, quando uma amostra é submetida a uma variação controlada de temperatura. Durante este processo de variação de massa em função da variação da temperatura é gerada uma curva termogravimétrica (curva TG), que fornece dados para prever a estequiometria, estabilidade térmica, composição e estabilidade dos compostos intermediários e a composição final da amostra (Wendlandt, 1986).

A análise térmica diferencial (DTA) é a técnica em que ocorre a diferença de temperatura entre uma substância e um material de referência, que é medida em função da temperatura enquanto a substância e o material de referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura. A amostra e o material de referência são submetidos à mesma programação de aquecimento monitorada pelos sensores de temperatura. Se a reação for exotérmica, a amostra irá liberar calor, ficando por um curto período de tempo, com uma temperatura maior que a referência. Do mesmo modo, se a reação for endotérmica a temperatura da amostra será temporariamente menor que a referência. Mudanças na amostra tais como fusão, solidificação e cristalização são então registradas sob a forma de picos. A diferença de temperatura é dada em μV devido ao uso de termopares em sua medição (Machado, 2008).

As curvas TG/DTA estão apresentadas na figura 3. As curvas de DTA mostram-se sobrepostas às curvas TG, a partir destas pode-se observar com maior clareza o comportamento termogravimétrico da farinha de bagaço de maçã.

As curvas de TG tiveram comportamentos semelhantes, as principais perdas de massa ocorrem em quatro fases, em reações consecutivas. De forma simultânea, as curvas de DTA também apresentam comportamentos iguais, com 2 picos endotérmicos e 2 picos exotérmicos. Exceto para a amostra com radiação de 1 kGy aos 9 meses, onde apresentou 5 fases de perda de massa e 1 pico exotérmico a mais, isso se deve a característica individual da amostra devido a heterogeneidade da matéria prima.

Todos os dados referentes à variação de perda de massa, intervalo de temperatura e a temperatura de pico estão expostos na tabela 4.

Ao analisar as amostras da fase inicial da pesquisa (TG/DTA do lado esquerdo da figura), a primeira perda de massa (etapa 1), que corresponde ao processo de desidratação, oscilou de 3,64 (0kGy), 2,25 (1kGy) e 2,83 (2kGy). Ao comparar esses valores com a fase final, aos 9 meses (TG/DTGA do lado direito da figura) variou de 10,36 (0kGy), 8,95 (1kGy) e 9,53 (2kGy), esse aumento de perda de massa pode ser devido ao fato da amostra ser higroscópica e também ficar armazenada durante 9 meses. Guerrero *et al.* (2014) citam que em temperaturas inferiores a 200 °C ocorrem uma pequena mudança na conversão da amostra, atribuído à remoção de umidade, que é aderente à superfície da amostra.

A decomposição iniciou a partir de 200 °C, onde as maiores perdas de massas das amostras estão entre as temperaturas de 200 a 450 °C, como pode ser observado na Figura 3. Isto pode ser atribuído ao processo de desvolatilização, analisando este comportamento, a perda de massa que ocorre a 200 °C está relacionada com o início da pirólise da lignina e hemicelulose (Munir *et al.*, 2009). Entre 250°C - 350 °C ocorre a desvolatilização máxima da hemicelulose, celulose e lignina. A celulose se decompõe entre 277 - 427 °C, hemicelulose em torno de 197 - 327 °C e lignina entre 277 - 527 °C. Pode-se observar que a decomposição do bagaço de maçã depois de 450 °C prossegue em ritmo mais lento, devido à decomposição da lignina (Guerrero *et al.*, 2014).

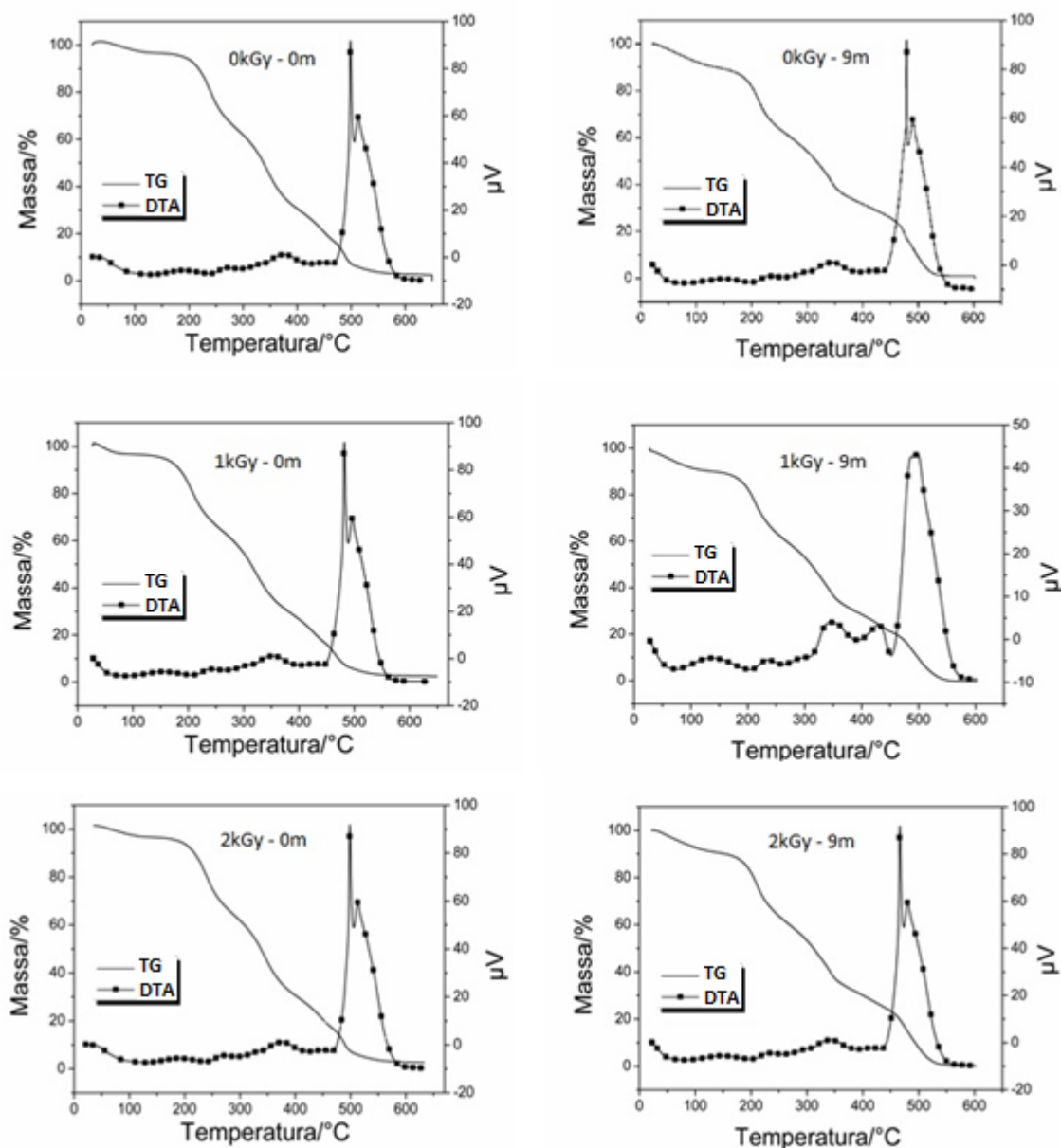


Figura 3: Curvas TG e DTA das amostras da FBM. Lado esquerdo amostras analisadas na fase inicial, lado direito amostras analisadas na fase final. Onde: 0 kGy - 0m (amostra controle – 0 meses); 0 kGy - 9m (amostra controle – 9 meses); 1 kGy - 0m (dose de 1kGy – 0 meses); 1 kGy - 9m (dose de 1 kGy – 9 meses); 2 kGy - 0m (dose de 2kGy – 0 meses); 2 kGy - 9m (dose de 2 kGy – 9 meses).

Tabela 4: Resultados das curvas TG/DTA para as amostras da farinha de bagaço de maçã

Amostras	Resultados TG		Resultados DTA		
	Etapas	Δm (%)	$\Delta T(^{\circ}C)$	Tp ($^{\circ}C$)	Pico
Dose 0 kGy 0 meses	1	3,64	21 – 145	77,30	Endotérmico
	2	33,80	145 - 290	239,35	Endotérmico
	3	34,13	290 - 404	344,28	Exotérmico
	4	27,08	404 - 589	487,00	Exotérmico
Dose 0 kGy 9 meses	1	10,36	21 – 146	62,59	Endotérmico
	2	27,64	146 – 260	213,38	Endotérmico
	3	29,10	260 – 391	342,32	Exotérmico
	4	31,49	391 - 572	477,15	Exotérmico
Dose 1 kGy 0 meses	1	2,25	22 – 145	62,01	Endotérmico
	2	34,02	145- 266	215,80	Endotérmico
	3	34,50	266 – 410	350,00	Exotérmico
	4	28,48	410 – 565	486,89	Exotérmico
Dose 1 kGy 9 meses	1	8,95	28 – 141	59,1	Endotérmico
	2	30,53	141 – 270	214,68	Endotérmico
	3	30,01	270 – 393	342,76	Exotérmico
	4	8,37	393 – 451	429,09	Exotérmico
	5	21,43	451 – 591	482,31	Exotérmico
Dose 2 kGy 0 meses	1	2,83	24 – 150	77,35	Endotérmico
	2	33,21	150 – 285	240,00	Endotérmico
	3	36,91	285 – 400	361,09	Exotérmico
	4	26,94	400 - 580	485,91	Exotérmico
Dose 2 kGy 9 meses	1	9,53	22 – 140	45,68	Endotérmico
	2	31,05	140 – 271	209,95	Endotérmico
	3	33,53	271 – 431	339,81	Exotérmico
	4	25,77	431 - 580	482,77	Exotérmico

Δm –Perda de massa; ΔT - Variação da temperatura; Tp - Temperatura do pico.

Sendo assim, após a desidratação, as perdas de massa (que ocorrem em reações consecutivas), podem estar atribuídas à caramelização e decomposição e da matéria orgânica, bem como, associadas à celulose, hemicelulose e lignina. Ao final da reação, um grande pico exotérmico pode ser observado na DTA, referente à oxidação da matéria orgânica – pirólise (Leone *et al.*, 2014). O resíduo final da decomposição térmica (cinzas) da farinha de bagaço de maçã foi de 1,35 % (0kGy-0m), 1,41 % (0kGy-9m), 0,74 % (1kGy-0m), 0,71 (1kGy-9m), 0,11 (2kGy-0m) e 0,09 (2kGy-9m).

3.3. AVALIAÇÃO MICROESTRUTURAL

As fotomicrografias estão apresentadas na figura 4, pode-se observar um material de composição orgânica, bem heterogêneo, com aglomerados de partículas que apresentam formas e tamanhos irregulares, característicos da amostra.

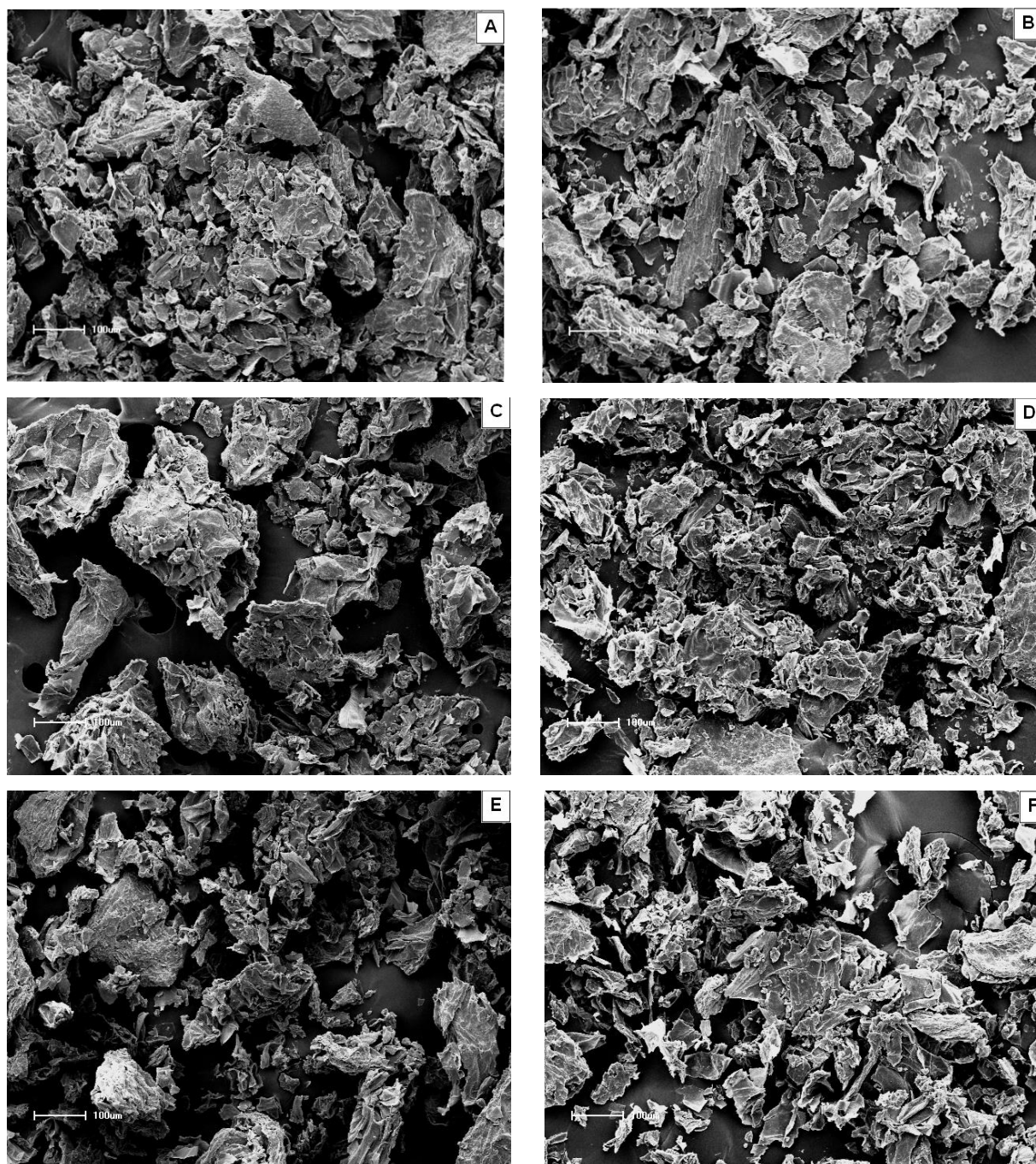


Figura 4: Fotomicrografias obtidas por MEV (x100) das amostras da FBM. Lado esquerdo amostras analisadas na fase inicial, lado direito amostras analisadas na fase final. Onde: (A) amostra controle – 0 meses; (B) amostra controle – 9 meses; (C) dose de 1kGy – 0 meses; (D) dose de 1 kGy – 9 meses; (E) dose de 2kGy – 0 meses; (F) dose de 2 kGy – 9 meses.

De acordo com as fotomicrografias, ocorrem algumas alterações como fissuras, poros e fragmentos menores na farinha de bagaço de maçã. Na amostra controle no tempo 0 (A) as partículas são maiores, quando comparadas com a amostra controle armazenada durante nove meses (B), a mesma situação ocorre para as demais amostras armazenadas, onde as irradiadas com doses de 1 e 2 kGy durante o armazenamento (D e F) apresentam aglomerados de partículas com fragmentos menores em relação as pesquisadas no tempo 0 (C e E).

Nas amostras analisadas no tempo 0, é possível observar que nas doses de 1 kGy (C) e 2 kGy (E) ocorrem um acúmulo de fragmentos menores decorrentes de fissuras, com poros e irregularidades na superfície, quando comparados com a amostra controle (A). A porosidade da matéria prima é mais visível na amostra com dose de 1 kGy observada aos 9 meses de armazenamento (D).

Alguns pesquisadores relataram que a forma dos grânulos de amido e dos polissacarídeos é deformada pela radiação gama (Byun *et al.*, 2008; Choi *et al.*, 2010; Choi *et al.*, 2011). Korotchenko e Sharpatyi (2004) citam que em polissacarídeos podem se degradar com doses elevadas de irradiação, deixando a estrutura mais amorfa, podendo aumentar a cristalinidade. Resultado semelhante foi encontrado em estudo com a quitosana irradiada, por Ulański e Rosiak (1992), que sofreu degradação, resultando em estruturas menores devido a quebra de cadeias poliméricas, isso se deve a β -clivagem do radical, que pode levar a abertura do anel de anidroglicose ou romper a ligação glicosídica.

Prakash *et al.* (2000) citam que a irradiação pode causar alterações na pectina e celulose presentes nas paredes celulares dos tecidos da planta, resultando em descoloração e amolecimento dos tecidos. Em contrapartida, Heredia-Guerrero *et al.* (2012) estudaram o efeito de doses baixas de radiação gama em cutículas de tomate por microscopia eletrônica de varredura e comprovou que a irradiação provocou algumas alterações texturais na superfície, mas sem modificação química significativa no fruto.

3.4. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Conforme a tabela 5, não houve o crescimento de coliformes a 45 °C e *salmonella* sp., tanto para a amostra controle como as irradiadas. A ausência ou valores abaixo do

permitido pela legislação dessas bactérias no bagaço desidratado de maçã também foram observados (Coelho e Wosiacki, 2010).

Tabela 5: Resultados das análises microbiológicas para as amostras de farinha de bagaço de maçã, durante o período de armazenamento

Doses (kGy)	Tempo (meses)	Coliformes a 45°C NMP/g	<i>Salmonella sp</i> 25g	Bolores e Leveduras UFC/g
0	0	Ausente	Ausente	$<10^2$
	9	Ausente	Ausente	$1,37 \times 10^5$
1	0	Ausente	Ausente	$<10^2$
	9	Ausente	Ausente	$3,7 \times 10^3$
2	0	Ausente	Ausente	Ausente
	9	Ausente	Ausente	Ausente

Para análises de bolores e leveduras, na primeira etapa (tempo 0) foi encontrado bolores na amostra controle (0 kGy), porém, abaixo do que preconiza a legislação. Na última etapa (9 meses) observou-se o crescimento de fungos filamentosos, nas amostras 0 kGy e 1 kGy, $1,37 \times 10^5$ UFC.g⁻¹ e $3,7 \times 10^3$ UFC.g⁻¹, respectivamente. O valor encontrado para a amostra de 0 kGy, foi maior do que a tolerância máxima para amostra indicativa que é 10^4 UFC.g⁻¹. Para a dose com 1 kGy, o valor está abaixo da tolerância indicativa, conforme a RDC 12 (BRASIL, 2001).

Essa presença de bolores pode estar relacionada com o tempo de armazenamento da farinha de bagaço de maçã, onde houve um aumento da umidade e da atividade de água (Aw). Onde a Aw inicial (tempo 0 meses) foi de 0,27 para a amostra controle, 0,26 para amostra com dose de 1 kGy e 0,24 para amostra com dose de 2 kGy. A Aw final (tempo 9 meses) foi de 0,45 para a amostra controle, 0,43 para amostra com dose de 1 kGy e 0,42 para amostra com dose de 2 kGy. Na amostra irradiada com 2 kGy não houve contaminação por fungos. Esse resultado confirma a eficácia da irradiação, determinando então que para a farinha de bagaço de maçã, a dose de 2 kGy foi letal para inibição de bolores, no período de armazenamento de 9 meses.

Além da contagem de bolores, também foi possível identificar 2 gêneros de fungos filamentosos, o *Penicillium* e *Cladosporium*, ambos estavam presentes na amostra com 0 kGy (amostra controle), analisadas na última etapa (9 meses).

O *Penicillium* cresce em matéria orgânica no solo, em ambientes úmidos e escuros. Por contágio, contaminam frutas e sementes, sendo responsáveis pelos

bolores que se instalam em alimentos para consumo humano. De acordo com Blum *et al.* (2007) o *Penicillium expansum*, causador do mofo-azul, é um dos principais responsáveis pelas perdas ocasionadas por podridões, em várias regiões produtoras de maçãs. O maior dano causado por este fungo não se refere ao fungo em si, mas a uma micotoxina, a patulina. Esta é a principal contaminante em maçãs e seus derivados, podendo causar efeitos tóxicos agudos em humanos. Com base nisso, Geus (2012) realizou estudos toxicológicos no bagaço desidratado de maçã em ratos, porém, os resultados não apresentaram toxicidade nesses animais.

O *Cladosporium* apresenta manchas escuras, de cor marrom ou preta, tem aspecto aveludado e pode formar ramificações. Atacam vegetais, causando sérios danos aos e grandes prejuízos, principalmente para a agricultura. O *Cladosporium herbarum* está relacionado com a podridão carpelar em maçãs, é uma doença caracterizada por formação de micélios de coloração preta ou cinza, prejudicando a fruta. A infecção ocorre através de partes da flor, a doença pode se desenvolver ainda no pomar (Shenderey *et al.*, 2010; Silveira *et al.*, 2013).

A fim de determinar a dose ideal de irradiação gama com ^{60}Co em maçãs Golden Delicious para inibição completa de *Penicillium expansum* Ahari Mostafavi *et al.* (2013), comprovaram que a germinação de esporos diminuiu com o aumento da dose de radiação de modo que, a dose de 600 Gy foi letal. Smith e Pillai (2004) relataram que a inibição completa da germinação de esporos é um resultado da destruição do DNA de células por aplicação de raios gama. A sensibilidade à radiação entre os gêneros dos fungos está relacionada com a pigmentação dos esporos, aqueles que apresentam a parede celular mais clara e fina, como o *Penicillium expansum* são mais sensíveis.

4. CONCLUSÃO

A avaliação da radiação gama - radioisótopo ^{60}Co , na farinha de bagaço de maçã durante armazenamento prolongado, foi investigado pela primeira vez, sobre as características físico-químicas, termogravimétricas, microestruturais e microbiológicas.

A abordagem quimiométrica se mostra eficaz ao facilitar a visualização das amostras da farinha de bagaço de maçã, nos parâmetros físico-químicos. Com os grupos sugeridos na HCA, de uma forma geral, pode-se afirmar que os resultados não foram influenciados pelo efeito da radiação gama durante o período de armazenamento.

Para análises microbiológicas, na dose de 1 kGy ocorrem presença de bolores aos 9 meses, porém, abaixo da tolerância indicativa. A dose de 2 kGy é letal para a inibição de bolores e leveduras ao término da pesquisa.

O mineral Calcio apresenta maiores teores nas amostras irradiadas e com o tempo de armazenamento esses valores aumentam. O bagaço de maçã irradiado durante o período de armazenamento de nove meses se mostra estável para os teores de proteína, lipídeos, fibra alimentar, Açúcar redutor total, os minerais K, Zn, Fe e Mn sendo uma ótima fonte de fibras podendo ser aplicado em produtos com alto valor agregado, visando economia e reduzindo o impacto ambiental.

REFERÊNCIAS

- AHARI MOSTAFAVI, H.; MAHYAR MIRMAJLESSI, S.; FATHOLLAHI, H.; SHAHBAZI, S.; MOHAMMAD MIRJALILI, S. Integrated effect of gamma radiation and biocontrol agent on quality parameters of apple fruit: An innovative commercial preservation method. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 91, n. 0, p. 193-199, 2013.
- BHUSHAN, S.; KALIA, K.; SHARMA, M.; SINGH, B.; AHUJA, S. Processing of apple pomace for bioactive molecules. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 285-296, 2008.
- BLUM, L. E. B.; DO AMARANTE, C. V. T.; DEZANET, A.; DE LIMA, E. B.; NETO, P. H.; ÁVILA, R. D.; SIEGA, V. Fosfitos aplicados em pós-colheita reduzem o mofo-azul em maçãs 'FUJI' e 'GALA'. **Revista brasileira de fruticultura**, v. 29, n. 2, p. 265-268, 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos**, 2001.
- BRIGIDE, P.; CANNIATTI, B.; GUIDOLIN, S. Evaluation of cooking and irradiation effects on the composition of carioca bean (*Phaseolus vulgaris* L.)/Avaliacao dos efeitos da coccao e irradiacao na composicao do feijao carioca (*Phaseolus vulgaris* L.). **Alimentos e Nutricao (Brazilian Journal of Food and Nutrition)**, v. 22, n. 1, p. 97, 2011.
- BYUN, E.-H.; KIM, J.-H.; SUNG, N.-Y.; CHOI, J.-I.; LIM, S.-T.; KIM, K.-H.; YOOK, H.-S.; BYUN, M.-W.; LEE, J.-W. Effects of gamma irradiation on the physical and structural properties of β -glucan. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 77, n. 6, p. 781-786, 2008.
- CANTERI, M. H. G.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G.; PETKOWICZ, C. L. D. O. **Characterization of Apple Pectin – A Chromatographic Approach**. 2012. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/export/citation/EndNote/chromatography-the-most-versatile-method-of-chemical-analysis/characterization-of-apple-pectin-a-chromatographic-approach>>.
- CHOI, J.-I.; KIM, H.-J.; LEE, J.-W. Structural feature and antioxidant activity of low molecular weight laminarin degraded by gamma irradiation. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 520-523, 2011.
- CHOI, J.-I.; KIM, J.-K.; KIM, J.-H.; KWEON, D.-K.; LEE, J.-W. Degradation of hyaluronic acid powder by electron beam irradiation, gamma ray irradiation, microwave irradiation and thermal treatment: A comparative study. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 4, p. 1080-1085, 2010.
- COELHO, L. M.; WOSIACKI, G. Avaliação sensorial de produtos panificados com adição de farinha de bagaço de maçã. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 30, p. 582-588, 2010.
- CORREIA, P. R. M.; FERREIRA, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 481-487 2007.

DHILLON, G. S.; KAUR, S.; BRAR, S. K. Perspective of apple processing wastes as low-cost substrates for bioproduction of high value products: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, n. 0, p. 789-805, 2013.

DHILLON, G. S.; KAUR, S.; BRAR, S. K.; VERMA, M. Potential of apple pomace as a solid substrate for fungal cellulase and hemicellulase bioproduction through solid-state fermentation. **Industrial Crops and Products**, v. 38, n. 0, p. 6-13, 2012.

FARKAS, J. Irradiation for better foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 4, p. 148-152, 2006.

FERNANDES, A.; BARREIRA, J. C. M.; ANTONIO, A. L.; BENTO, A.; BOTELHO, M. L.; FERREIRA, I. C. F. R. Assessing the effects of gamma irradiation and storage time in energetic value and in major individual nutrients of chestnuts. **Food Chemical Toxicological**, v. 49, p. 2429 - 2432, 2011.

FERTONANI, H. C. R.; SCABIO, A.; CARNEIRO, E. B. B.; SCHEMIM, M. H. C.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Extraction model of low methoxyl pectin from apple pomace effects of acid concentration and time on the process and the product. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, p. 177-185, 2009.

FERTONANI, H. C. R.; SIMÕES, D. R. S.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Potencial da variedade Joaquina para o processamento de suco clarificado e vinho seco de maçã. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 26, p. 434-440, 2006.

GABRIEL, L. S. **Aproveitamento tecnológico do bagaço de maçã como matéria-prima na elaboração de adoçante natural. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Ponta Grossa**, 2009.

GASSARA, F.; AJILA, C. M.; BRAR, S. K.; VERMA, M.; TYAGI, R. D.; VALERO, J. R. Liquid state fermentation of apple pomace sludge for the production of ligninolytic enzymes and liberation of polyphenolic compounds. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 6, p. 999-1004, 2012.

GEUS, L. M. M. Bagaço de maçã: Aspectos nutricionais, de toxicidade e efeitos biológicos **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Ponta Grossa**, 2012.

GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; FARIA, J. A. F.; CRUZ, A. G. Characterization of Brazilian lager and brown ale beers on color, phenolic compounds, and antioxidant activity using chemometrics. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 3, p. 563 - 571, 2011.

GRANATO, D.; DE OLIVEIRA, C. C.; CARUSO, M. S. F.; NAGATO, L. A. F.; ALABURDA, J. Feasibility of different chemometric techniques to differentiate commercial Brazilian sugarcane spirits based on chemical markers. **Food Research International**, v. 60, p. 212-217, 2013.

GUERRERO, M. R. B.; MARQUES DA SILVA PAULA, M.; ZARAGOZA, M. M.; GUTIÉRREZ, J. S.; VELDERRAIN, V. G.; ORTIZ, A. L.; COLLINS-MARTÍNEZ, V. Thermogravimetric study on the pyrolysis kinetics of apple pomace as waste biomass. **International Journal of Hydrogen Energy**, n. 0, 2014.

HASSAN, A. B.; DIAB, E. E.; MAHMOUD, N. S.; ELAGIB, R. A. A.; RUSHDI, M. A. H.; OSMAN, G. A. M. Effect of radiation processing on in vitro protein digestibility and availability of calcium, phosphorus and iron of peanut. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 91, n. 0, p. 200-202, 2013.

HEREDIA-GUERRERO, J. A.; DE LARA, R.; DOMÍNGUEZ, E.; HEREDIA, A.; BENAVENTE, J.; BENÍTEZ, J. J. Chemical-physical characterization of isolated plant cuticles subjected to low-dose γ -irradiation. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 165, n. 8, p. 803-808, 2012.

HUNSCHE, M.; BRACKMANN, A.; ERNANI, P. R. Effect of potassium fertilization on the postharvest quality of 'Fuji' apples. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 4, p. 489 - 496, 2003.

IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo. 2008.

KOROTCHENKO, K. A.; SHARPATYI, V. A. Radiation Chemistry of Polysaccharides: 3. On the Strange Dose Dependence of the Buildup of Some Radiolysis Products. **High Energy Chemistry**, v. 38, n. 4, p. 231-235, 2004.

KOSMALA, M.; KOLODZIEJCZYK, K.; ZDUŃCZYK, Z.; JUŚKIEWICZ, J.; BOROS, D. Chemical composition of natural and polyphenol-free apple pomace and the effect of this dietary ingredient on intestinal fermentation and serum lipid parameters in rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 17, p. 9177-9185, 2011.

LAVELLI, V.; CORTI, S. Phloridzin and other phytochemicals in apple pomace: Stability evaluation upon dehydration and storage of dried product. **Food Chemistry**, v. 129, n. 4, p. 1578-1583, 2011.

LAVELLI, V.; KERR, W. Apple Pomace Is a Good Matrix for Phytochemical Retention. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 22, p. 5660-5666, 2012.

LEONE, R. D. S.; COLMAN, T. A. D.; SCHNITZLER, E.; ELLENDERSEN, L. N.; MASSON, M. L. Evolved gas analysis (coupled TG-DSC-FTIR) applied to the thermal behaviour of inulin. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 108, n. 0, p. 323-326, 2014.

MACHADO, M. E. S. Análise térmica diferencial e termogravimetria. Disponível em https://www.academia.edu/7599003/AN%C3%81LISE_T%C3%89RMICA_DIFERENCIAL_E_TERMOGRAVIM%C3%89TRICA, 2008.

MARATHE, S. A.; MACHAIAH, J. P.; RAO, B. Y. K.; PEDNEKAR, M. D.; RAO, V. A. Extension of shelf-life of whole-wheat flour by gamma radiation **International Journal of Food Science & Technology**, v. 37, n. 2, p. 163-168, 2002.

MARTINEZ, P. C. C. Efeito da radiação gama e do processo de germinação sobre as características nutricionais do feijão. **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, 2011.

MOMM, A. Efeito do bagaço de maçã sobre a glicemia, lipidemia, peroxidação de lipídeos e peso corporal em ratos obesos. **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Ponta Grossa**, 2007.

MONDANEZ, L. Aceitação de Alimentos Irradiados: Uma questão de educação. **Tese (Doutorado em Ciências e Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares**, 2012.

MUNIR, S.; DAOOD, S. S.; NIMMO, W.; CUNLIFFE, A. M.; GIBBS, B. M.; MUNIR, S.; DAOOD, S. S.; NIMMO, W.; CUNLIFFE, A. M.; GIBBS, B. M. Thermal analysis and devolatilization kinetics of cotton stalk, sugar cane bagasse and shea meal under nitrogen and air atmospheres. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 3, p. 1413-1418, 2009.

NOGUEIRA, A.; SANTOS, L. D.; PAGANINI, C.; WOSIACKI, G. Avaliação da fermentação alcoólica do extrato de bagaço de maçã. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 2, p. 179 - 186, 2005.

NOGUEIRA, A.; TEIXEIRA, S. H.; DEMIATE, I. M.; WOSIACKI, G. Influência do processamento no teor de minerais em sucos de maçãs. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 27, p. 259-264, 2007.

OLIVEIRA, M. C. S.; SILVA, N. C. C.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Avaliação do método de liquefação enzimática na extração de suco de maçã/Evaluation of apple juice extraction by the enzyme liquefaction method. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 906, 2006.

PAGANINI, C.; NOGUEIRA, A.; DENARDI, F.; WOSIACKI, G. Análise da aptidão industrial de seis cultivares de maçãs, considerando suas avaliações físico-químicas (Dados da Safra 2001/2002). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 1336-1343, 2004.

PAGANINI, C.; NOGUEIRA, A.; SILVA, N. C.; WOSIACKI, G. Aproveitamento de bagaço de maçã para a produção de álcool e obtenção de fibras alimentares. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, p. 1231-1238, 2005.

PARMAR, I.; RUPASINGHE, H. P. V. Optimization of dilute acid-based pretreatment and application of laccase on apple pomace. **Bioresource Technology**, v. 124, n. 0, p. 433-439, 2012.

PIRMOHAMMADIA, R.; ROUZBEHAN, Y.; REZAYAZDI, K.; ZAHEDIFAR, M. Chemical composition, digestibility and in situ degradability of dried and ensiled apple pomace and maize silage. **Journal of Food Engineering**, v. 80, n. 2, p. 536 – 544, 2007.

PRAKASH, A.; GUNER, A. R.; CAPORASO, F.; FOLEY, D. M. Effects of Low-dose Gamma Irradiation on the Shelf Life and Quality Characteristics of Cut Romaine Lettuce Packaged under Modified Atmosphere. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 3, p. 549-553, 2000.

SATO, M. D. F.; RIGONI, D. C.; CANTERI, M. H. G.; PETKOWICZ, C. L. D. O.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Chemical and instrumental characterization of pectin from dried pomace of eleven apple cultivars. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 33, p. 383-389, 2011.

SATO, M. F.; VIEIRA, R. G.; ZARDO, D. M.; FALCÃO, L. D.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Apple pomace from eleven cultivars: an approach to identify sources of bioactive compounds. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, p. 29-35, 2010.

SHENDEREY, C.; SHMULEVICH, I.; ALCHANATIS, V.; EGOZI, H.; HOFFMAN, A.; OSTROVSKY, V.; LURIE, S.; ARIE, R. B.; SCHMILOVITCH, Z. NIRS detection of moldy core in apples. **Food and Bioprocess Technology**, v. 3, n. 1, p. 79-86, 2010.

SILVA, R. C.; PINO, L. M.; SPOTO, M. H. F.; D'ARCE, M. A. B. R. Estabilidade oxidativa e sensorial de farinhas de trigo e fubá irradiados. **Oxidative and sensorial stability of radiated wheat and corn flour**, v. 30, n. 2, p. 406-413, 2010.

SILVEIRA, F. N.; KRETZSCHMAR, A. A.; RUFATO, L.; BOGO, A.; FIORAVANÇO, J. C. Relação entre características morfológicas de frutos e incidência de podridão carpelar em clones de macieira 'Gala' e 'Fuji' sobre diferentes porta-enxertos. **Revista brasileira de fruticultura**, v. 35, n. 1, p. 75-85, 2013.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Princípios de análise instrumental. **5. ed. Porto Alegre: Bookman**, p. 1024, 2002.

SMITH, J. C.; PILLAI, S. Irradiation and Food Safety. **Food Technology**, v. 58, n. 11, p. 48 - 54, 2004.

SOARES, M.; WELTER, L.; GONZAGA, L.; LIMA, A.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 28, p. 727-732, 2008.

SOUKOULIS, C.; LEBESI, D.; TZIA, C. Enrichment of ice cream with dietary fibre: Effects on rheological properties, ice crystallisation and glass transition phenomena. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 665-671, 2009.

SUDHA, M. L.; BASKARAN, V.; LEELAVATHI, K. Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect on the rheological characteristics and cake making. **Food Chemistry**, v. 104, n. 2, p. 686-692, 2007.

SUN-WATERHOUSE, D.; TEOH, A.; MASSAROTTO, C.; WIBISONO, R.; WADHWA, S. Comparative analysis of fruit-based functional snack bars. **Food Chemistry**, v. 119, n. 4, p. 1369-1379, 2010.

ULAŃSKI, P.; ROSIAK, J. Preliminary studies on radiation-induced changes in chitosan. **International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part C. Radiation Physics and Chemistry**, v. 39, n. 1, p. 53-57, 1992.

VENDRUSCOLO, F.; RIBEIRO, C. S.; ESPÓSITO, E.; NINOW, J. L. Tratamento biológico do bagaço de maçã e adição em dietas para alevinos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 13, p. 487-493, 2009.

WANG, Z.; SUN, J.; CHEN, F.; LIAO, X.; HU, X. Mathematical modelling on thin layer microwave drying of apple pomace with and without hot air pre-drying. **Journal of Food Engineering**, v. 80, n. 2, p. 536-544, 2007.

WENDLANDT, W. Thermal Analysis. **Wiley interscience publication**, n. 3, p. 815, 1986.

YAN, H.; KERR, W. L. Total phenolics content, anthocyanins, and dietary fiber content of apple pomace powders produced by vacuum-belt drying. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 6, p. 1499-1504, 2013.

ZANÃO, C. F. P.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; SARMENTO, S. B. S.; ARTHUR, V. Efeito da irradiação gama nas características físico-químicas e sensoriais do arroz (*Oryza sativa* L.) e no desenvolvimento de *Sitophilus oryzae* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 1, p. 46-55, 2009.

ZIELINSKI, A.; HAMINIUK, C.; ALBERTI, A.; NOGUEIRA, A.; DEMIATE, I.; GRANATO, D. A comparative study of the phenolic compounds and the in vitro antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. **Food Research International**, v. 60, n. 0, p. 246-254, 2014.

CAPITULO III

EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NOS COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA FARINHA DE BAGAÇO DE MAÇÃ, UTILIZANDO TÉCNICAS MULTIVARIADAS

RESUMO

Com um aumento crescente na industrialização e comercialização de maçãs, origina-se um enorme volume de resíduo, o bagaço de maçã, que contém a mesma caracterização de nutrientes e compostos bioativos que a maçã, com constituição heterogênea, composto de casca, semente, cálice, haste e polpa. Apresentam ótimas fontes de compostos fenólicos, sendo os ácidos fenólicos e os flavonóides os mais encontrados. Nas últimas décadas vêm sendo muito pesquisados os efeitos da radiação gama, por atuar na preservação, redução da carga microbiana ou esterilização, aumentando o prazo de validade dos produtos e principalmente em manter a qualidade dos alimentos. A aplicação da quimiometria vem sendo aplicada em estudos relacionados com maçãs e sucos, a fim de explorar e classificar a capacidade antioxidante e compostos fenólicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da radiação gama nos compostos fenólicos e atividade antioxidante da farinha de bagaço de maçã durante o período de armazenamento, utilizando técnicas multivariadas. Durante o período de armazenamento ao longo dos 9 meses, independente da irradiação, ocorreram perdas gradativas praticamente em todos os parâmetros analisados. A feredizina foi o composto fenólico que manteve teores constantes durante a pesquisa. O ácido clorogênico e a sua classe de ácidos hidroxicinâmicos aumentaram proporcionalmente com o tempo nas amostras irradiadas. A abordagem quimiométrica permitiu observar a influência da irradiação e do tempo de armazenamento nas amostras da farinha de bagaço de maçã, facilitando uma melhor visualização dos resultados. Atráves da HCA, foram seraparados em 3 grupos, o primeiro caracterizado por apresentar apenas as amostras sem irradiação, o segundo, amostras com 2 kGy e o terceiro caracterizou-se por representar a dose de 1 kGy.

Palavras-chave: Fitoquímicos, irradiação, estabilidade, PCA, HCA

ABSTRACT

With increasing industrialization and commercialization of apples, stems from a huge amount of residue, apple pomace, which contains the same nutrients and characterization of bioactive compounds that apple with heterogeneous constitution, composed of peel, seed, cup, stalk and pulp. Have good sources of phenolic compounds, and phenolic acids and flavonoids found the most. In recent decades has been heavily researched the effects of gamma radiation, to act to preserve, reducing microbial load or sterilization, increasing the shelf life of products and especially in maintaining the quality of food. The application of chemometrics has been applied in studies related to apples and juice in order to explore and classify the antioxidant capacity and phenolic compounds. The objective of this study was to evaluate the effects of gamma radiation on the phenolic compounds and antioxidative activity of dehydrated apple pomace during the storage period, using multivariate techniques. During the storage period during the 9 months, regardless of irradiation, there were gradual losses in almost all parameters. The feredizin was the phenolic compound that remained constant levels during the search. Chlorogenic acid and its class hydroxycinnamic acids increased proportionally with time in the irradiated samples. The chemometric approach allowed us to observe the influence of irradiation and storage time the samples of cake meal dehydrated apple, facilitating a better visualization of the results. Through the HCA were seraparados into 3 groups, the first characterized in that only samples without irradiation, the second samples with 2 kGy and the third was characterized by representing the dose of 1 kGy.

Keywords: Phytochemicals, irradiation, stability, PCA, HCA

1. INTRODUÇÃO

A produção sustentável de alimentos e valorização de resíduos está se tornando em questões importantes nas indústrias alimentícias. Com um aumento crescente na industrialização e comercialização de maçãs a nível mundial, origina-se um enorme volume de resíduo, o bagaço de maçã, cerca de 12 milhões de toneladas ao ano (Usda, 2014), o que representa em torno de 18% da produção.

Enquanto resíduo, com custo negativo, o bagaço é usado como adubo orgânico ou alimentação para gados e se dispensado na natureza acarreta danos de forte impacto ambiental. Porém, com agregação de valor econômico e tratamentos adequados, diversas são as alternativas para acrescentar valor e aplicá-lo. Podem servir de matéria-prima promissora para a extração direta de compostos bioativos, bioprodução de produtos de alto valor agregado, bem como, na incorporação de alimentos, produção de etanol, constituintes de aromas, gás natural, ácido cítrico em fermentação semi-sólida, formação de meios de cultura para produção de cogumelos comestíveis, extração de enzimas e pectinas, entre outros (Paganini *et al.*, 2005; Gabriel, 2009; Coelho e Wosiacki, 2010; Dhillon *et al.*, 2012; Dhillon *et al.*, 2013; Rabetafika *et al.*, 2014).

O bagaço contém a mesma caracterização de nutrientes e compostos bioativos que a maçã, contudo, com constituição heterogênea, composto de casca, semente, cálice, haste e polpa (Paganini *et al.*, 2005; Pirmohammadia *et al.*, 2007; Sudha *et al.*, 2007; Vendruscolo *et al.*, 2009; Queji *et al.*, 2010; Lavelli e Corti, 2011; Wu *et al.*, 2014). Apresentam ótimas fontes de compostos fenólicos (Schieber *et al.*, 2001), sendo os ácidos fenólicos e os flavonóides os mais encontrados (Suárez *et al.*, 2010).

Estes antioxidantes são reconhecidos como compostos bioativos que agem contra possíveis efeitos nocivos causados por radicais livres, atuam na prevenção e controle de doenças cardiovasculares, pulmonares, diabetes mellitus tipo 2, alergias, obesidade, colesterolemia, atividade anticarcinogênica, entre outros (Boyer e Liu, 2004; Neto *et al.*, 2008; Pierini *et al.*, 2008; Wang e Stoner, 2008; Shahidi, 2012). Sendo assim, o consumo de produtos fontes desses fitoquímicos aliados ao um estilo de vida saudável, podem proporcionar efeitos benéficos a saúde.

Para a extração destes compostos bioativos, os solventes orgânicos são mais utilizados, como a acetona e metanol (Lu e Yeap Foo, 2000; Schieber *et al.*, 2003; Ćetković *et al.*, 2008; Soares, M. C. *et al.*, 2008; Garcia *et al.*, 2009), em conjunto com a técnica de HPLC, por apresentar alta precisão, facilidade na preparação da amostra,

apresentando seletividade analítica para determinar e quantificar diversos componentes dos alimentos (Ćetković *et al.*, 2008; Savatović *et al.*, 2008; Lavelli e Corti, 2011; Grigoras *et al.*, 2013b; Wu *et al.*, 2014).

A irradiação de alimentos é uma tecnologia de processamento que visa à melhoria da segurança alimentar, nas últimas décadas vem sendo muito pesquisada e seus efeitos são conhecidos por atuar na preservação, redução da carga microbiana ou esterilização, aumentando o prazo de validade dos produtos e principalmente em manter a qualidade dos alimentos. A sua eficácia e segurança são comprovadas (Fao; Who; Farkas e Mohácsi-Farkas, 2011; laea, 2013; Usda, 2014). A radiação proveniente do ^{60}Co tem a vantagem de produzir raios gama com alta penetrabilidade fornecendo um tratamento uniforme, é o mais utilizado para processamento de alimentos (laea, 2013).

Com relação aos efeitos dos tratamentos de radiação sobre os níveis de antioxidantes e fitoquímicos, irá depender da dose aplicada, da especificidade do produto e a sensibilidade de cada fitoquímico (Allothman *et al.*, 2009). Embora, a dose de radiação administrada a um produto desempenha um papel importante na concentração de antioxidantes, trabalhos citam que os solventes de extração também desempenham um papel significativo (Huang e Mau, 2006; Tsai *et al.*, 2007).

Diversos trabalhos já foram publicados sobre o impacto positivo da radiação na preservação de produtos vegetais (Wang e Chao, 2002; Huang e Mau, 2006; Song *et al.*, 2006; Alighourchi *et al.*, 2008; Fernandes *et al.*, 2011). São poucos os estudos que se referem ao efeito da irradiação gama nas propriedades antioxidantes e como se comportam durante o armazenamento. Lavelli e Corti (2011), avaliaram a estabilidade dos fitoquímicos no bagaço desidratado de maçã e constataram que a floredizina foi a mais estável durante um período de nove meses.

Recentemente o uso da quimiometria vem sendo aplicada em estudos relacionados com maçãs e sucos, a fim de explorar e classificar a capacidade antioxidante e compostos fenólicos (Braga *et al.*, 2013; Zielinski, Acácio, Alberti, Aline, *et al.*, 2014), obtendo bons resultados. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da radiação gama nos compostos fenólicos e atividade antioxidante da farinha de bagaço de maçã durante o período de armazenamento, utilizando técnicas multivariadas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATÉRIA PRIMA

A cultivar de maçã utilizada nesse trabalho foi a Fuji, adquirida no comércio da cidade de Ponta Grossa-PR, safra 2013.

2.2. MÉTODOS

Os métodos utilizados para o desenvolvimento desse trabalho englobam primeiramente os processos de obtenção, desidratação e irradiação do bagaço de maçã. Após essas etapas, as amostras foram submetidas as análises, descritas a seguir.

2.2.1. PROCESSOS

2.2.1.1. PROCESSAMENTO DO BAGAÇO DE MAÇÃ

Para a obtenção do bagaço, as maçãs foram selecionadas, lavadas em água clorada a 1%, cortadas e trituradas em moinho de facas, marca Metvisa. A massa ralada foi acondicionada em telas de polietileno, superpostas entre placas de madeira revestidas e prensada a 3 Kg.cm^{-2} em equipamento hidráulico (Hydraulica Press Eureka, Senger), por 15 minutos, para extração do suco e obtenção de um bagaço fresco e úmido (Coelho e Wosiacki, 2010).

O bagaço foi lavado com água em temperatura ambiente, numa proporção 2:1, por 3 vezes para retirada dos sólidos solúveis superficiais, até o líquido de lavagem estabilizar no máximo com 0,2 ° BRIX, em seguida foi centrifugado (Arno classic) por 5 minutos (Paganini *et al.*, 2005; Sato *et al.*, 2010).

Após esse procedimento, foi submetido à desidratação em estufa de circulação e renovação de ar quente (modelo MA 035, marca Marconi, Piracicaba – São Paulo Brasil) com temperatura de 90 °C, conforme protocolo de secagem realizado por Gabriel (2009). Em seguida, moído e peneirado em malha de 60 Mesh, obtendo a farinha de bagaço de

maçã – FBM. Ao final, foi armazenada e embalada com 250 gramas de amostra em pequenos sacos de polietileno atóxico com fechamento hermético.

2.2.1.2. IRRADIAÇÃO DAS AMOSTRAS

Todas as amostras foram submetidas à irradiação nas doses de 0, 1 e 2 kGy, com taxa de 0,87 kGy/hora. Foi utilizado um irradiador com fonte de Cobalto 60 (GAmmacell 220 Excell – MDS Nordion), localizado no laboratório de Melhoramento de Plantas do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), Campus ESALQ em Piracicaba – SP.

2.2.1.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental foi 3 doses (0, 1 e 2 kGy) x 4 períodos de armazenamento (0, 3, 6 e 9 meses) x 3 replicatas. Após a irradiação, a amostra com dose 0 kGy (controle) e as demais (1 e 2 kGy) foram submetidas à primeira etapa das análises (tempo 0). As demais amostras foram armazenadas em temperatura ambiente até o período de cada experimento.

2.3. ANÁLISES

2.3.1. ANÁLISE COLORIMÉTRICA

Os parâmetros de cor da farinha de bagaço de maçã foram determinados em equipamento colorimétrico de refletância Mini Scan EZ modelo 4500L (HunterLab, Reston, VA, USA) com iluminante D65 e ângulo de observação de 10°. O equipamento foi calibrado utilizando placas padrão nas cores preto e branco (X: 82,30; Y: 87,38; Z: 93,37). Os parâmetros de cor foram avaliados de acordo com o sistema CIE $L^*a^*b^*$: L^* (luminosidade); a^* (intensidade de cor vermelha – índice de verde a vermelho) e b^* (intensidade de cor amarela – índice de azul a amarelo). A partir dos resultados de L^* , a^* e b^* , foram cálculos os índices de saturação - Croma (C^*), tonalidade – ângulo Hue ($^{\circ}H$) (Modenese, 2011), de acordo com as Equações abaixo:

$$C^*_{ab} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (1)$$

$$^{\circ}H = \tan^{-1} (b^*/a^*) + 180 \text{ quando } a^* < 0 \text{ ou} \quad (2)$$

$$^{\circ}H = \tan^{-1} (b^*/a^*) \text{ quando } a^* > 0 \quad (3)$$

2.3.2. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE ÁGUA

A atividade de água (A_w) da farinha de bagaço de maçã foi determinada utilizando-se o equipamento AQUALAB, série 3B, versão 3,5 (Decagon Devices, Pullman, USA).

2.3.3. EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos foram extraídos da farinha de bagaço de maçã segundo a metodologia descrita por Alberti *et al.* (2014). 1g da amostra foi extraído 2 vezes com 15 mL de metanol 84,5% durante 15 minutos a 28 °C e com acetona 65%, durante 20 minutos a 10 °C. Depois a mistura foi centrifugada a 8160 rpm, por 20 minutos a 4 °C (HIMAC CR-GII, Hitachi, Ibaraki, Japão) e liofilizada. Antes das análises as amostras foram reconstituídas com 2 mL de 2,5% de ácido acético e metanol (3:1) e filtrado numa seringa com filtro de nylon de 0,22 µm (Waters, Milford, MA, EUA).

2.3.4. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO*

A capacidade antioxidante foi determinada pelo método de FRAP (ferric reducing antioxidant power), utilizando microplaca (BioTek Instruments; incubação até 50°C, Software "GEN5" via PC, bivolt - mod. "ELX808IU+GEN5). Foi seguido a metodologia descrita por Benzie e Strain (1996).

O potencial antioxidante total se baseia na redução da potência de antioxidantes presentes nas amostras, onde um potencial antioxidante reduz o íon férrico (Fe^{3+}) ao íon ferroso (Fe^{2+}), formando um complexo azul (Fe^{2+} /TPTZ). Para calcular a capacidade antioxidante, a mudança na absorbância entre o reagente FRAP e a mistura depois 6 minutos de reação, foi correlacionado com uma curva de calibração de padrão Trolox (0,1-1,0 mmol/L). A absorbância foi medida pelo espectrofotômetro de microplaca

(Epoch, Synergy-BIOTEK, USA) em 593nm. Os resultados foram expressos em mmol de Trolox (equivalentes de Trolox) por gramas de amostra.

2.3.5. DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A análise de compostos fenólicos totais foi realizada por quantificação espectrométrica, utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu descrita por Singleton e Rossi (1965). Num tubo de ensaio, foram adicionados 8,4 mL de água destilada, 100 µL de reagente Folin-Ciocalteu 500 µL. Após 3 minutos foram adicionados 1,0 mL de carbonato de sódio 20 % a cada tubo e em seguida foi agitado em vórtice (Vision Scientific CO, Coreia). Após 1 hora, a absorbância foi medida em espectrofotômetro (Mini-UV 1240, Shimadzu, Tóquio, Japão) a 720 nm. Os resultados expressos em mg de CTE (equivalentes de catequina) por 100 gramas da amostra.

2.3.6. IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS POR HPLC

Para a análise dos compostos fenólicos foi utilizado o aparelho de HPLC Alliance 2695 (Waters, Milford, MA, EUA), com um agrupamento de detectores de fotiodo PDA 2998 (Waters, Milford, MA, EUA), bomba quaternária e amostrador automático. A separação foi realizada numa coluna Symmetry C₁₈ a 20 °C (4,6 x 150 mm, 3,5 µm) (Waters, Milford, MA, EUA).

A fase móvel foi composta do solvente A (ácido acético a 2,5%, v/v) e solvente B (acetonitrila). Em seguida, o gradiente de eluição foi aplicado: 3 - 9% de B (0 - 5 min), 9 - 16% de B (5 - 15 min), 16 - 36,4% de B (15 - 33 min), seguido de um ciclo isocrático a 100% de B (5 min) e recondicionamento da coluna (3% de B, 10 min). A taxa de fluxo foi de 1,0 mL/min. A identificação de compostos fenólicos foi realizada comparando o tempo de retenção e espectros com os de padrões. As corridas cromatográficas foram monitoradas em 280 nm (flavanóis e dihidrochalconas), 320 nm (ácidos hidroxicinâmicos) e 350 nm (flavonóis). A quantificação foi realizada curvas de calibração de padrões (pelo menos sete concentrações foram usadas para construir as curvas).

As equações de regressão dos padrões químicos puros, limites de detecção, limites de quantificação, tempo de retenção e comprimento de onda utilizado para quantificar os compostos fenólicos, presentes nas amostras de farinha de bagaço de maçã são apresentados na Tabela 1, em seguida, exemplos de cromatogramas obtidos estão na Figura 1.

Tabela 1: Parâmetros cromatográficos de compostos fenólicos analisados por HPLC

Compostos fenólicos	Tempo de Retenção (min.)	Bandas UV (nm)	Equação de regressão	R ²	Limite de detecção (µg/mL)	Limite de quantificação (µg/mL)
Ác. Gálico	3,25	271,5	$y = 2E+07x - 371284$	0,999	0,15	0,50
Ác. Clorogênico	9,00	326,9	$y = 2E+07x - 695106$	0,998	0,19	0,62
Ác. Cumarico	15,33	309,6	$y = 5E+07x + 1E+06$	0,995	0,03	0,09
Ác. Cafeico	19,76	323,9	$y = 4E+07x - 237524$	0,999	0,13	0,44
Catequina	8,91	278,7	$y = 6E+06x - 114983$	0,999	0,08	0,28
Epicatequina	12,56	278,4	$y = 6E+06x - 123503$	0,999	0,07	0,23
Procianidina B1	6,91	278,7	$y = 4E+06 - 3175$	0,997	0,54	1,81
Procianidina B2	9,85	279,8	$y = 5E+06 - 2351$	0,997	0,17	0,56
Floredizina	25,43	284,3	$y = 2E+07x - 217901$	0,999	0,09	0,30
Floretina	32,14	285,5	$y = 3E+07x - 209182$	0,998	0,03	0,10
Quercitina	23,50	376,2	$y = 1E+07x - 163002$	0,994	0,98	3,26
Rutina	18,49	355	$y = 1E+07x - 356302$	0,998	0,07	0,23
Quercitina galactosídeo	18,73	355	$y = 7E+07x - 69383$	0,998	0,06	0,19
Quercitina glucosídeo	19,27	353,8	$y = 2E+07x - 90936$		0,26	0,87
Quercitina ramnosídeo	21,47	349	$y = 2E + 07x - 4352,3$	0,998	0,27	0,89
Kampferol	28,44	364,4	$y = 1E+08x - 501059$	0,997	0,77	2,56
Miricetina	32,86	364,4	$y = 6E+06x - 106416$	0,997	0,15	0,50

Os limites de detecção (LOD) e os de quantificação (LOQ) foram determinados por um método baseado em parâmetros da curva analítica (Brasil, 2003), de acordo com a Equação 4 e 5:

$$LOD = \frac{dp \times 3,3}{S} \quad (4)$$

$$LOQ = \frac{dp \times 10}{S} \quad (5)$$

Onde: dp = desvio padrão da resposta e S = média do coeficiente angular da curva de calibração.

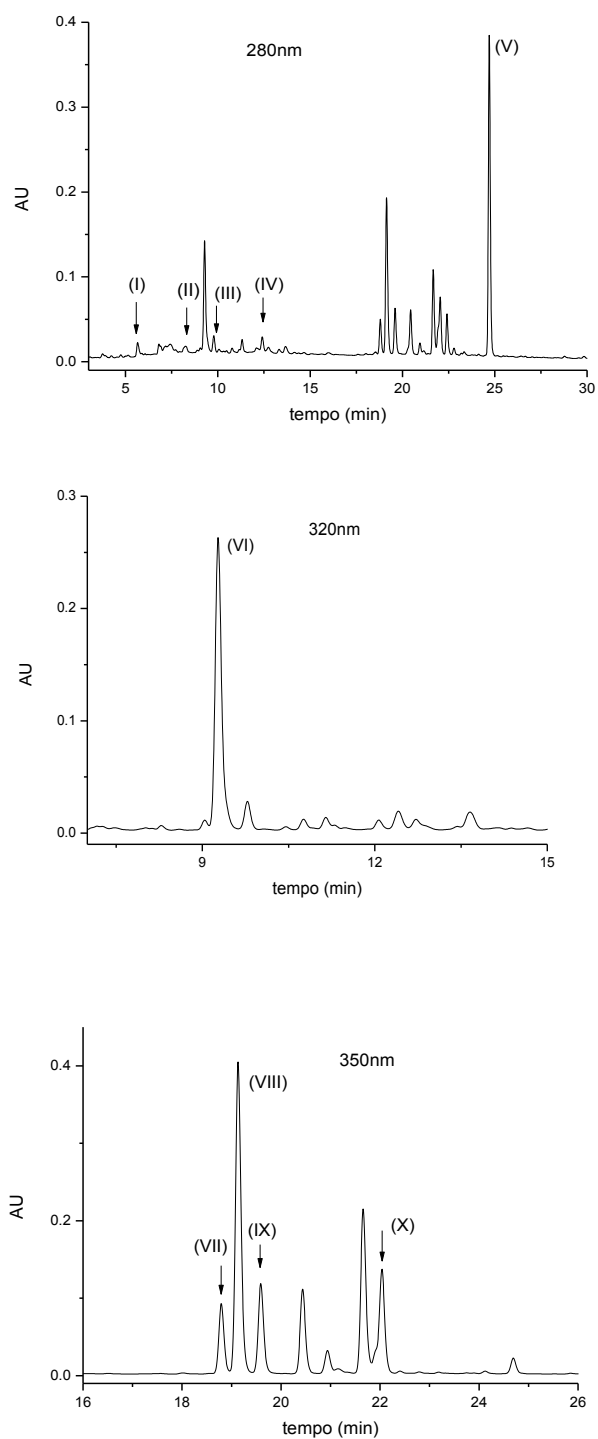


Figura 1: Cromatogramas obtidos do extrato fenólico da FDM a 280 nm, 320 nm e 350 nm. (I) procianidina B₁, (II) catequina, (III) procianidina B₂, (IV) epicatequina, (V) floreidizina, (VI) ácido clorogênico, (VII) rutina, (VIII) quercetina galactosídeo, (IX) quercetina glicosídeo e (X) quercetina ramnosídeo

2.3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão, as médias foram comparadas pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). Uma abordagem quimiométrica composta por análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA), foi utilizada para analisar parâmetros de cor, compostos fenólicos totais, compostos fenólicos individuais por HPLC e atividade antioxidante. Todos os resultados foram previamente autoescalados para padronizar a importância estatística de todas as variáveis. Em seguida, uma matriz de amostras ($n = 36$) e variáveis de resposta ($n = 21$) foi construída, as amostras como linhas e variáveis como colunas, totalizando 756 pontos de dados.

O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado para expressar a força entre duas variáveis contínuas. É essencial analisar a significância estatística de cada coeficiente de correlação e, de uma forma prática, isto pode ser realizado calculando o valor de p . (Zielinski, A. *et al.*, 2014).

A PCA foi aplicada para separar as amostras de acordo com as análises citadas. Os resultados obtidos para cada um dos parâmetros foram adaptados como colunas e as amostras como linha. Foram adotados valores próprios superiores a 1,0 para explicar a projeção das amostras no gráfico e análise bidimensional foi baseada em correlações lineares (Granato *et al.*, 2011).

Para a HCA, as similaridades das amostras e da variáveis foram calculadas com base na distância euclidiana e o método hierárquico aglomerativo Ward foi usado para agrupar as amostras (Granato *et al.*, 2013). A fim de comparar os resultados entre os grupos formados, o teste de Levene foi realizado para verificar a homogeneidade das variâncias, enquanto a análise unifatorial de variância (ANOVA) e o teste de médias de Fisher foram então aplicados para identificar diferenças entre os grupos. Para as variáveis que apresentaram dados não-paramétricos ($p < 0,05$), foi utilizado a comparação múltipla de Kruskal-Wallis (Zielinski, A. *et al.*, 2014). Para análise estatística foi utilizado o software STATISTICA 7.0 (Stat-Soft Inc., Tulsa, OK, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os efeitos da radiação gama durante o armazenamento, nos parâmetros de cor da farinha de bagaço de maçã são exibidos na tabela 2. Yan e Kerr (2013), avaliaram as cores do bagaço desidratado de maçã, os valores de L^* variaram entre 71,50 - 75,70, a^* entre 6,19 - 6,28 e valores de b^* entre 21,30 - 26,70 nas faixas de temperatura entre 80 a 110°C. Os autores Canteri *et al.* (2012), citaram $L^* = 51,8$, $a^* = 5,4$ e $b^* = 18,2$. Schieber *et al.* (2003), analisaram a cor nos extratos do bagaço de maçã, os valores de L^* variou entre 55,50 - 79,80, a^* 1,70 - 6,60, b^* 14,60 - 32,00, de C^* 14,70 - 32,50 e de H^* 77,80 - 83,40. Em comparação aos estudos citados, os valores encontrados para amostra controle (dose 0 kGy no tempo 0 meses) da farinha de bagaço de maçã foram: $L^*=71,50$, $a^*=9,72$, $b^*=22,70$, $C^*=24,70$ e $H=66,80$.

Considerando que os valores de luminosidade variam do claro ao escuro, sendo o valor 0 (zero) correspondente a cor preta e o 100 (cem) a cor branca, ao avaliar o atributo de cor L^* , os valores oscilaram de 70,48 (dose 2 kGy nos tempos 6 e 9 meses) a 72,60 (dose 1 kGy no tempo 0), indicando uma coloração com tendência ao branco. A radiação gama não influenciou na luminosidade da farinha de bagaço de maçã, todavia, durante o período de armazenamento esse parâmetro diminuiu significativamente ($p<0,05$) na dose de 1 kGy. Camargo (2012), obteve resultados semelhantes em estudo realizado com amendoins irradiados, ocorrendo a diminuição do atributo L^* durante a estocagem.

Os valores de a^* e b^* representam as cores propriamente ditas, variando do vermelho ao verde (a^*) e do amarelo ao azul (b^*). Para o parâmetro a^* os valores oscilaram entre 6,83 (dose 1 kGy no tempo 6 meses) a 9,72 (dose 0 kGy no tempo 0 meses). As amostras irradiadas no tempo 0, foram menores quando comparadas ($p<0,05$) a amostra controle. Para o parâmetro b^* os valores oscilaram entre 18,26 (dose 1 kGy no tempo 9 meses) a 23,36 (dose 0 kGy no tempo 3 meses). A amostra irradiada com dose 2 kGy apresentou-se estável durante o período de armazenamento. Al-Bachir (2015), observou que os atributos de a^* e b^* aumentaram com a radiação gama (doses de 1 a 3 kGy), em estudo realizado com óleo de pistache. Já Lee *et al.* (2004), não detectaram efeitos adversos na cor de páprica irradiadas entre as doses de 0 e 7 kGy.

Tabela 2: Efeito da radiação gama nos parâmetros de cor da FBM durante o período de armazenamento

Atributos de cor	Doses (kGy)	Tempo (meses)			
		0	3	6	9
L*	0	71,50±1,24	70,74±0,62	71,83±1,52	71,46±1,18
	1	72,60±1,16 ^a	71,72±0,98 ^{ab}	71,21±0,28 ^{ab}	70,69±0,36 ^b
	2	71,88±0,79	71,57±1,27	70,48±0,43	70,48±0,68
a*	0	9,72±0,14 ^{Aa}	8,27±0,25 ^b	8,28±0,25 ^{Ab}	8,24±0,19 ^{Ab}
	1	7,52±0,78 ^B	7,45±0,60	6,83±0,67 ^B	6,95±0,53 ^B
	2	7,42±0,51 ^{Bb}	7,42±0,27 ^b	8,90±0,53 ^{Aa}	8,91±0,52 ^{Aa}
b*	0	22,70±1,06 ^a	23,36±0,43 ^a	20,84±0,23 ^{Ab}	20,25±0,70 ^b
	1	22,07±1,32 ^a	21,67±1,70 ^a	18,41±1,55 ^{Bb}	18,26±1,09 ^b
	2	20,87±0,96	20,25±1,52	20,45±1,26 ^{AB}	20,00±1,00
C*	0	24,70±0,97 ^a	24,78±0,46 ^a	22,42±0,30 ^{Ab}	21,87±0,72 ^b
	1	23,32±1,37 ^a	22,92±1,71 ^a	19,63±1,69 ^{Bb}	19,54±1,20 ^b
	2	22,15±0,92	21,57±1,47	22,31±1,23 ^A	21,89±1,07
°H	0	66,80±1,03 ^{Bc}	70,50±0,44 ^a	68,34±0,40 ^{ABb}	67,85±0,24 ^{ABc}
	1	71,19±1,71 ^A	71,00±1,43	69,65±0,32 ^A	69,18±0,49 ^A
	2	70,41±1,49 ^{Aa}	69,82±1,22 ^a	66,45±1,54 ^{Bb}	66,01±0,94 ^{Bb}

Nota - Resultados expressos como média±desvio-padrão; Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as doses; Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa durante o armazenamento; As diferenças significativas em nível de 5% foram realizadas pelo teste de Duncan.

Para o parâmetro C* os valores oscilaram entre 19,54 (dose 1 kGy no tempo 9 meses) a 24,78 (dose 0 kGy no tempo 3 meses). Os valores de C* próximo de zero, são indicativos de cores mais neutras (branco/cinza) e aquelas cores próximas de 60 são indicativas de maior intensidade/vívidas (Modenese, 2011). A amostra irradiada com dose 2 kGy apresentou-se estável durante o período de armazenamento.

Os valores de °H foram entre 66,01 (dose 2 kGy no tempo 9 meses) a 71,19 (dose 1 kGy no tempo 0 meses). Os resultados do ângulo Hue indicam atributo da cor vermelha a 0 °H, amarelo a 90 °H, verde a 180 °H e azul a 270 °H (Modenese, 2011). As amostras irradiadas no tempo 0, apresentam coloração mais próximas ao amarelo, quando comparadas a amostra controle, e a amostra irradiada com dose 1 kGy apresentou-se estável durante o período de armazenamento.

Os resultados obtivos para compostos fenólicos individuais e suas classes determinados por HPLC, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante (FRAP) estão apresentados na tabela 3.

Ao analisar os valores da atividade antioxidante e compostos fenólicos totais, observou-se que os teores de FRAP variaram entre 24,44 (dose 0 kGy no tempo 9 meses) a 57,30 TEACmMol.g⁻¹ (dose 1 kGy no tempo 0 meses), os CFT entre 477,75 (dose 0 kGy no tempo 9 meses) a 660,58 mg.100g⁻¹ (dose 1 kGy no tempo 0 meses). As amostras com dose 1 kGy no tempo 0 foram maiores (p<0,05), quando comparadas

com as amostras com 0 e 2 kGy. No decorrer do tempo, em todas as amostras ocorreu uma diminuição dos teores. Embora, para os CFT, na dose de 1 kGy, não houve diferença significativa de perda durante o armazenamento.

Na tabela 3 encontram-se as classes e os compostos fenólicos individuais, resultando em comportamentos distintos perante a irradiação e o armazenamento. No presente trabalho foram avaliadas as classes dos ácidos hidroxicinâmicos (ácido clorogênico), flavanóis (catequina, epicatequina, procianidina B₁ e B₂), dihidrochalconas (floredezina), flavonóis (rutina, quercitina galactosídeo, quercitina glucosídeo e quercitina ramnosídeo). O ácido gálico, ácido cumárico, ácido caféico, floretina, mirecitina e kampferol também foram avaliados, porém não foram detectados nas amostras da farinha de bagaço de maçã, ou os valores foram abaixo do limite de detecção.

Os flavonóis foram a classe que obtiveram maiores teores de compostos fenólicos, entre 30,57 (dose 0 kGy no tempo 9 meses) a 72,60 mg.100g⁻¹ (dose 1 kGy no tempo 0 meses), seguido das dihidrochalconas 38,53 (dose 0 kGy no tempo 0 meses) a 61,84 mg.100g⁻¹ (dose 1 kGy no tempo 3 meses). Os ácidos hidroxicinâmicos e os flavanóis foram as classes que apresentaram os menores valores, respectivamente. Lavelli e Corti (2011) ao estudarem o comportamento dos compostos fenólicos em bagaço desidratado de maçã durante 9 meses de armazenamento em diferentes níveis de Aw, também relataram que os flavonóis e as dihidrochalconas resultaram em maiores concentrações em comparação com as outras classes.

A floredizina (dihidrochalconas) foi o composto fenólico individual em maior concentração, variou entre 34,23 (dose 0 kGy no tempo 6 meses) a 57,77 mg.100g⁻¹ (dose 1 kGy no tempo 0 meses), e durante o período de armazenamento se manteve constante em todas as doses, sendo a dose com 1 kGy a que apresentou ($p < 0,05$) maior teor desse composto. Essa estabilidade conferida a floredizina também foi relatado por (Lavelli e Corti, 2011). Este resultado está de acordo com uma avaliação prévia do ranking de reatividade fenólica, pois a floredizina contém um anel monofenólico β , ao contrário de outros compostos fenólicos, presentes na casca de maçã, que contém um anel o-difenólico β (René *et al.*, 2010).

Tabela 3: Resultados de compostos fenólicos individuais e suas classes determinados por HPLC, compostos fenólicos totais (CFT) e capacidade antioxidante (FRAP)

Análises	Tempo (meses)				
	Doses (kGy)	0	3	6	9
Ácidos hidroxicinâmicos (mg.100g ⁻¹)	0	19,88±0,21 ^{Ca}	18,03±0,35 ^{Cb}	17,32±0,26 ^{Cc}	15,74±0,50 ^{Cd}
	1	30,43±0,44 ^{Ad}	33,12±0,17 ^{Ab}	35,14±0,50 ^{Ac}	39,07±0,61 ^{Ad}
	2	24,18±0,35 ^{Bd}	25,75±0,44 ^{Bc}	27,82±0,25 ^{Bb}	28,55±0,47 ^{Ba}
Ác. Clorogênico (mg.100g ⁻¹)	0	15,33±0,56 ^{Ca}	13,50±0,10 ^{Cb}	12,72±0,62 ^{Cc}	11,03±0,23 ^{Cd}
	1	27,55±0,55 ^{Ad}	28,43±0,39 ^{Ac}	30,07±0,59 ^{Ab}	34,69±0,99 ^{Aa}
	2	19,07±0,65 ^{Bd}	20,99±0,24 ^{Bc}	23,21±0,28 ^{Bb}	24,41±0,28 ^{Ba}
Flavanóis (mg.100g ⁻¹)	0	nd ^{Cd}	4,63±0,66 ^{Cc}	7,77±0,81 ^{Cb}	10,53±0,50 ^{Ca}
	1	56,82±1,03 ^{Ab}	58,13±1,35 ^{Aa}	50,61±1,44 ^{Ac}	38,09±0,87 ^{Ad}
	2	46,79±1,15 ^{Ba}	40,61±1,70 ^{Bb}	34,85±1,46 ^{Bc}	30,50±2,34 ^{Bd}
Catequina (mg.100g ⁻¹)	0	nd ^{Bb}	nd ^{Cb}	nd ^{Cb}	2,01±0,25 ^{Ca}
	1	nd ^{Bd}	6,07±0,65 ^{Ba}	5,70±0,18 ^{Bb}	2,13±0,53 ^{Bc}
	2	14,62±0,46 ^{Aa}	11,12±0,25 ^{Ab}	9,09±0,84 ^{Ac}	7,82±0,49 ^{Ad}
Epicatequina (mg.100g ⁻¹)	0	nd ^C	nd ^C	nd ^C	nd ^C
	1	21,96±1,15 ^{Aa}	21,45±0,63 ^{Ab}	14,93±0,60 ^{Ac}	7,68±1,03 ^{Ad}
	2	13,63±1,14 ^{Ba}	13,22±1,15 ^{Bb}	10,04±0,50 ^{Bc}	7,06±1,07 ^{Bd}
Procianidina B1 (mg.100g ⁻¹)	0	nd ^C	nd ^C	3,12±0,36 ^C	4,46±0,62 ^C
	1	17,70±0,35 ^{Aa}	13,47±0,68 ^{Ab}	13,08±0,78 ^{Ac}	11,53±0,65 ^{Ad}
	2	7,43±0,25 ^{Ba}	5,06±0,53 ^{Bb}	4,63±0,61 ^{Bc}	4,61±0,19 ^{Bc}
Procianidina B2 (mg.100g ⁻¹)	0	nd ^{Cc}	4,63±0,66 ^{Ca}	4,66±0,57 ^{Ca}	4,06±0,55 ^{Cb}
	1	17,16±0,53 ^{Aa}	17,14±0,36 ^{Aa}	16,90±0,05 ^{Ab}	16,76±0,57 ^{Ac}
	2	11,12±0,65 ^{Bab}	11,22±0,60 ^{Ba}	11,09±0,89 ^{Bb}	11,01±0,63 ^{Bb}
Dihidrochalconas (mg.100g ⁻¹)	0	38,53±0,49 ^C	38,63±0,49 ^C	38,60±0,11 ^C	38,63±0,51 ^C
	1	61,77±0,65 ^A	61,84±0,39 ^A	61,90±0,26 ^A	61,70±0,26 ^A
	2	41,97±0,65 ^B	42,04±0,39 ^B	42,14±0,39 ^B	41,94±0,39 ^B
Floredizina (mg.100g ⁻¹)	0	34,53±0,49 ^C	34,40±0,25 ^C	34,23±0,67 ^C	34,43±0,59 ^C
	1	57,77±0,65 ^A	57,57±0,95 ^A	57,60±1,17 ^A	57,70±1,17 ^A
	2	37,97±0,65 ^B	37,65±0,25 ^B	37,74±1,21 ^B	37,77±2,29 ^B
Flavonóis (mg.100g ⁻¹)	0	50,35±4,15 ^{Ba}	36,56±0,37 ^{Cb}	35,46±0,79 ^{Cc}	30,57±0,86 ^{Cd}
	1	72,60±1,16 ^{Aa}	63,90±1,30 ^{Ab}	61,03±0,44 ^{Ac}	55,94±1,05 ^{Ad}
	2	49,88±0,65 ^{Ba}	43,48±0,90 ^{Bb}	42,20±0,93 ^{Bc}	35,62±1,24 ^{Bd}
Rutina (mg.100g ⁻¹)	0	8,11±0,13 ^{Ca}	6,23±0,57 ^{Cb}	5,27±0,14 ^{Cc}	3,74±0,34 ^{Cd}
	1	25,89±0,89 ^{Aa}	21,78±0,40 ^{Ab}	21,20±0,08 ^{Ac}	20,79±0,89 ^{Ad}
	2	20,15±0,57 ^{Ba}	18,21±0,68 ^{Bb}	17,83±0,56 ^{Bc}	15,68±0,75 ^{Bd}
Quercitina galactosideo (mg.100g ⁻¹)	0	19,02±0,66 ^{Ba}	11,46±0,46 ^{Bd}	12,58±0,51 ^{Bb}	12,04±0,63 ^{Bc}
	1	20,40±0,14 ^{Aa}	16,73±0,63 ^{Ab}	16,12±0,41 ^{Ac}	15,60±0,12 ^{Ad}
	2	13,82±0,56 ^{Ca}	11,32±0,17 ^{Cb}	11,04±0,36 ^{Cc}	8,25±0,09 ^{Cd}
Quercitina glucosideo (mg.100g ⁻¹)	0	11,47±4,47 ^{Aa}	7,31±0,20 ^{Bb}	7,13±0,30 ^{Bb}	4,80±0,04 ^{Bc}
	1	10,49±0,15 ^{Ba}	10,46±0,29 ^{Ab}	10,25±0,35 ^{Ac}	6,96±0,08 ^{Ad}
	2	6,69±0,06 ^{Cb}	6,73±0,21 ^{Ca}	4,61±0,2 ^{Cc}	3,22±0,11 ^{Cd}
Quercitina ramnosideo (mg.100g ⁻¹)	0	11,75±0,26 ^{Ba}	11,56±0,06 ^{Bb}	10,48±0,25 ^{Bc}	10,00±0,06 ^{Bd}
	1	15,82±0,31 ^{Aa}	14,94±0,37 ^{Ab}	13,46±0,47 ^{Ac}	12,60±0,06 ^{Ad}
	2	9,23±0,36 ^{Ca}	7,22±0,17 ^{Cb}	8,72±0,20 ^{Cc}	8,47±0,43 ^{Cd}
Compostos fenólicos totais (mg.100g ⁻¹)	0	562,66±49,79 ^{Ba}	542,99±25,69 ^{Bab}	482,98±27,6 ^B	477,75±29,74 ^{Cb}
	1	660,58±33,15 ^A	640,58±7,51 ^A	622,84±69,50	582,67±12,98 ^A
	2	645,64±25,55 ^{ABa}	622,31±4,90 ^{ABab}	540,70±108,67 ^{ab}	533,96±28,25 ^{Bb}
FRAP TEACmMol.g ⁻¹	0	36,19±1,36 ^{Ba}	32,43±0,35 ^{Bb}	28,34±1,20 ^C	24,44±0,10 ^{Cd}
	1	57,30±1,15 ^{Aa}	46,80±2,50 ^{Ab}	32,22±3,53 ^C	27,16±0,03 ^{Ad}
	2	37,39±1,18 ^{Ba}	34,56±0,14 ^{Bb}	29,17±0,79 ^C	26,70±0,29 ^{Bd}

Nota - Resultados expressos como média±desvio-padrão; Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as doses; Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa durante o armazenamento; As diferenças significativas em nível de 5% foram realizadas pelo teste de Duncan; nd - não detectado ou valores abaixo do LOD.

O ácido clorogênico foi o segundo composto encontrado em maior concentração, variou de 11,03 (dose 0 kGy no tempo 9 meses) a 34,69 mg.100g⁻¹ (dose 1 kGy no tempo 9 meses) e os ácidos hidroxicinâmicos, de 15,74 (dose 0 kGy no tempo 9 meses) a 39,07 mg.100g⁻¹ (dose 1 kGy no tempo 9 meses). Este composto e sua classe de ácidos hidroxicinâmicos demonstraram um comportamento distinto dos demais. As doses de 1 e 2 KGy foram superiores ($p < 0,05$), respectivamente, em comparação a amostra não irradiada. Interessante descrever que os teores das doses irradiadas aumentaram no decorrer do tempo, já para as amostras com 0 kGy, os valores diminuíram.

Esse comportamento do ácido clorogênico, com o aumento dos teores nas amostras irradiadas e armazenadas, pode ser explicado por Alothman *et al.* (2009), a concentração do antioxidante também pode ser dependente do tempo de avaliação, com a análise imediatamente após o tratamento com radiação ou após um determinado período de tempo de duração. Song *et al.* (2006) verificaram que os fenóis analisados no suco couve imediatamente após a irradiação, foi significativamente menor do que o controle. No entanto, o nível de composto fenólico da amostra irradiada depois tornou-se mais elevada do que um dia de controle. Este fato foi atribuído à oxidação imediata dos compostos fenólicos, desempenhando assim um papel antioxidante, reduzindo os radicais livres e as espécies reativas de oxigênio induzida por irradiação.

Níveis elevados de floreidizina e ácido clorogênico em maçãs (Awad *et al.*, 2001; Kondo *et al.*, 2002; Veberic *et al.*, 2005) e sucos (Zielinski, Acácio, Alberti, Aline, *et al.*, 2014) também foram encontrados por esses autores.

Para a classe dos flavanóis, o efeito da irradiação e o tempo de prateleira também foram evidenciados. O teor de catequina apenas foi detectado na amostra controle aos 9 meses de armazenamento, porém, em baixa concentração, quando comparada com a dose 2 kGy, que foi detectada em todos os períodos, com perdas gradativas durante o armazenamento ($p < 0,05$).

Em relação ao comportamento da epicatequina, não foi detectada na amostra controle, porém, foi encontrado em todos períodos nas doses de 1 e 2 kGy, com perdas proporcionais ao tempo. A amostra irradiada com 1 kGy apresentou maiores concentrações. Os teores de procianidina B₁, na amostra controle, foram detectados a partir do sexto mês e para as amostras irradiadas, o comportamento foi semelhante a epicatequina.

Ainda em comparação com os compostos fenólicos pertencentes a classe dos flavanóis, a procianidina B₂ foi o composto fenólico desse grupo mais estável durante a pesquisa, embora não tenha sido detectada na amostra controle, no tempo 0. A dose 1 kGy apresentou maiores teores ($p < 0,05$) de compostos fenólicos.

Todas amostras da classe dos flavonóis demonstraram-se instáveis no decorrer do período analisado, e a dose de 1 kGy apresentou maiores teores de compostos fenólicos. Estudos realizado por Lavelli e Corti (2011), demonstram que a instabilidade dos compostos fenólicos presentes no bagaço de maçã está relacionada com o nível de *Aw*, e determina que um valor acima de 0,32 é indicativo para redução desses teores durante o armazenamento. Relata ainda, que os compostos das classes dos flavanóis e flavonóis não foram detectados com níveis acima de 0,54. Em nosso estudo a *Aw* também foi averiguada, a *Aw* média entre as amostras foi de 0,25 (0 meses), 0,33 (3 meses), 0,39 (6 meses) e 0,43 (9 meses). Os resultados estão de acordo com o autor, e alguns compostos com ou sem irradiação tiveram redução a partir do terceiro mês.

Em relação aos efeitos da irradiação sobre os compostos fenólicos, irá depender da dose aplicada, podendo aumentar, diminuir ou apresentar efeitos insignificantes, é preciso levar em consideração a especificidade do produto e a sensibilidade de cada fotoquímico (Allothman *et al.*, 2009).

A fim de compreender o conjunto de dados, as inter-relações e diferenças entre as amostras da farinha de bagaço de maçã durante o período de armazenamento, a análise de componentes principais (PCA) e a análise hierárquica de agrupamentos (HCA) foram aplicadas para variáveis: parâmetros de cor, compostos fenólicos individuais e suas classes determinados por HPLC, compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante (FRAP).

A PCA demonstrada na Figura 2 é referente à representação gráfica bidimensional das amostras de farinha de bagaço de maçã. As componentes principais 1 (PC1, autovalor 11,68) e 2 (PC2, autovalor 4,83) explicaram 79,69% da variância dos dados.

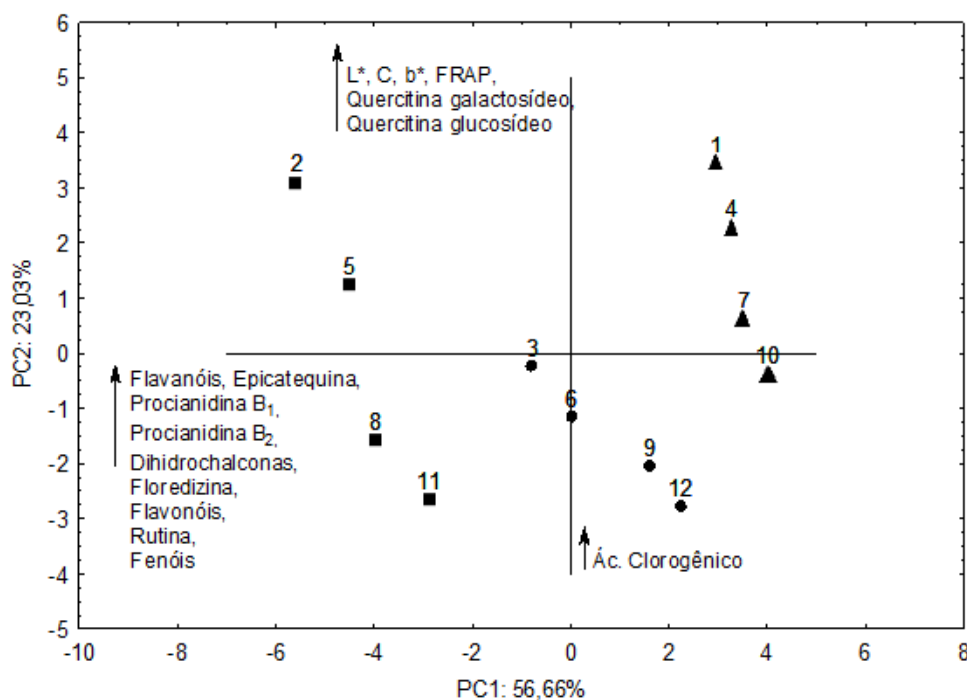


Figura 2: Gráficos de escores da PC1 x PC2 das amostras de FBM em relação as análises de compostos fenólicos individuais e suas classes determinados por HPLC, compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante (FRAP) e parâmetros de cor durante o período de armazenamento. Amostras: 1 (0 kGy – 0 meses), 2 (1 kGy – 0 meses), 3 (2 kGy – 0 meses), 4 (0 kGy – 3 meses), 5 (1 kGy – 3 meses), 6 (2kGy – 3 meses), 7 (0 kGy – 6 meses), 8 (1 kGy – 6 meses), 9 (2 kGy – 6 meses), 10 (0 kGy – 9 meses), 11 (1 kGy – 9 meses), 12 (2 kGy – 9 meses)

Na área a esquerda da PC1 encontram-se amostras com maiores teores de flavanóis, epicatequina, procianidina B₁ e B₂, dihidrochalconas, floredizina, flavonóis, rutina e compostos fenólicos totais. Em relação a PC2, a área superior concentrou as amostras com maiores teores de luminosidade (L*), cromaticidade (C), b*, atividade antioxidante (FRAP), quercitina galactosídeo e glucosídeo. Na área inferior localizaram-se as amostras com maior teor de ácido clorogênico. As amostras irradiadas com dose de 1kGy em todos os tempos, codificadas como (2, 5, 8 e 11) foram localizadas no segundo e terceiro quadrante (lado esquerdo), as amostras com 2 kGy (3, 6, 9 e 12) no terceiro e quarto quadrante e as amostras que não foram irradiadas (1, 4, 7 e 10) no primeiro e quarto quadrante. É possível supor que a PCA foi uma abordagem adequada para verificar as diferenças entre as doses de radiação gama e o tempo de armazenamento nas amostras de farinha de bagaço de maçã.

O dendrograma da figura 3 apresenta a associação entre as variáveis estudadas. Através da análise de Pearson pode-se observar que os parâmetros de cor b* e C*, apresentaram forte associação e correlação positiva ($r = 0,98$; $p < 0,001$), o parâmetro C* também se correlacionou com a* ($r = 0,63$; $p < 0,001$). A luminosidade (L*) apresentou

forte associação com a atividade antioxidante (FRAP) e correlação significativa ($r = 0,49$; $p < 0,05$), como pode ser observado na figura 3.

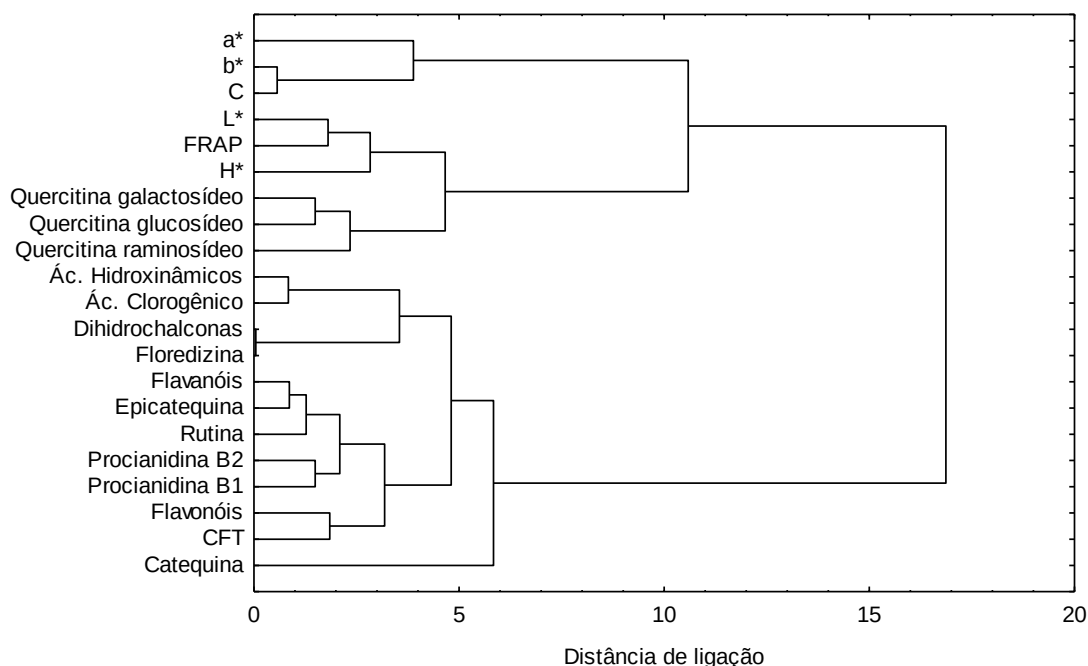


Figura 3: Análise Hierárquica de Agrupamentos aplicada às variáveis das amostras de FBM durante o período de armazenamento em relação as análises de compostos fenólicos individuais e suas classes determinados por HPLC, compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante (FRAP) e parâmetros de cor durante o período de armazenamento.

As quercitinas galactosídeo, glucosídeo e ramnosídeo, apresentaram forte associação e correlação significativa ($p < 0,001$) entre elas, sendo ($r = 0,89$) para galactosídeo e glucosídeo, ($r = 0,81$) para galactosídeo e ramnosídeo, ($r = 0,76$) para glucosídeo e ramnosídeo. A classe das dihidrochalconas apresentaram forte associação e correlação significativa com a floredizina ($r = 0,99$; $p < 0,001$). A classe dos flavanóis também apresentaram correlação significativa ($p < 0,001$), com a epicatequina, procianidina B₁ e B₂, sendo ($r = 0,96$) para flavanóis e epicatequina, ($r = 0,89$) para flavanóis e procianidina B₁ e ($r = 0,94$) para flavanóis e procianidina B₂. Caso semelhante ocorreu com a classe dos ácidos hidroxicinâmicos com o ácido clorogênico ($r = 0,99$; $p < 0,001$).

Os compostos fenólicos totais (CFT) apresentaram correlação positiva ($p < 0,05$) com todos os compostos fenólicos individuais e suas classes, bem como, com a atividade antioxidante (FRAP), onde apresentou $r = 0,65$ e $p < 0,001$. Segundo Picinelli *et al.* (2009) o método antioxidante de poder de redução férrico (FRAP) tendem a exibir correlação altamente significativa com os compostos fenólicos. Zielinski, Acácio, Alberti, Aline, *et al.* (2014), ao analisarem sucos de maçãs, encontraram associação e

correlação significativa ($p < 0,01$) entre atividade antioxidante (FRAP) e compostos fenólicos totais ($r = 0,92$) e com o ácido clorogênico ($r = 0,66$). A capacidade antioxidante dos ácidos hidroxicinâmicos (Ác. clorogênico) está relacionada com a presença de catecol, que gera um semiquinona estabilizada por ligações de hidrogênio, quando é captado a partir da estrutura química (Amorati *et al.*, 2006). No entanto, Picinelli *et al.* (2009) citam que apesar das conclusões de correlações significativas entre atividade antioxidante e diferentes famílias de fenóis, é difícil estimar a atividade antioxidante desses compostos fenólicos.

A similaridade das amostras foi avaliada por HCA, onde três grupos foram sugeridos (figura 4) sendo o grupo 1 caracterizado por doses de 0kGy, o grupo 2 por doses de 2 kGy e o grupo 3 por doses de 1 kGy.

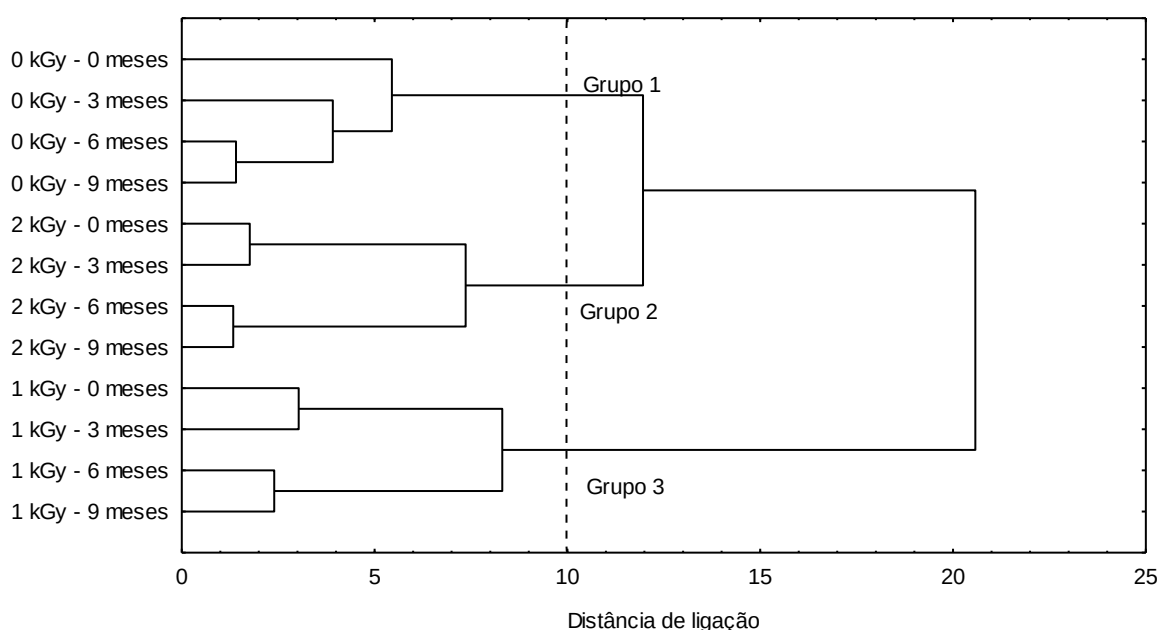


Figura 4: Análise Hierárquica de Agrupamentos aplicada às amostras de FBM durante o período de armazenamento em relação às análises de compostos fenólicos individuais e suas classes determinados por HPLC, compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante (FRAP) e parâmetros de cor durante o período de armazenamento.

Na tabela 4, as médias de cada variável de resposta foram comparadas e os resultados da ANOVA para os grupos obtidos no HCA foram calculados.

Tabela 4: Resultados (médias) das análises de cor, compostos fenólicos individuais por HPLC, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (FRAP), sugeridos na Análise Hierárquica de agrupamento (HCA)

Variáveis	Grupo 1 0kGy n= 4	Grupo 2 2kGy n=4	Grupo 3 1kGy n=4	DPM	p-valor Levene	p-valor Anova/ Kruskall – Wallis
L*	71,34	71,10	71,56	0,61	<0,05	0,50
a*	8,63 ^a	8,16 ^a	7,19 ^b	0,88	0,27	<0,001*
b*	21,79 ^a	20,39 ^b	20,10 ^b	1,54	0,48	<0,05*
C	23,44 ^a	21,98 ^b	21,35 ^b	1,62	0,41	<0,05*
°H	68,38 ^b	68,17 ^b	70,25 ^a	1,81	0,06	<0,05*
Ácidos hidroxicinâmicos (mg.100 ⁻¹)	17,74 ^c	26,58 ^b	34,44 ^a	7,50	0,49	<0,001*
Ác. Clorogênico (mg.100 ⁻¹)	13,14 ^c	21,92 ^b	30,19 ^a	7,61	0,06	<0,001*
Flavanóis totais (mg.100 ⁻¹)	5,74 ^c	38,19 ^b	50,92 ^a	20,90	<0,05	<0,001*
Catequina (mg.100 ⁻¹)	0,50 ^c	10,66 ^a	3,48 ^b	4,98	<0,05	<0,001*
Epicatequina (mg.100 ⁻¹)	nd ^c	10,99 ^b	16,51 ^a	8,13	<0,001	<0,001*
Procianidina B1 (mg.100 ⁻¹)	1,90 ^c	5,43 ^b	13,94 ^a	5,96	<0,05	<0,001*
Procianidina B2 (mg.100 ⁻¹)	3,34 ^c	11,11 ^b	16,99 ^a	5,63	<0,05	<0,001*
Dihidrochalconas (mg.100 ⁻¹)	38,60 ^c	42,02 ^b	61,80 ^a	10,68	0,45	<0,001*
Floredizina (mg.100 ⁻¹)	34,40 ^c	37,78 ^b	57,66 ^a	10,72	<0,05	<0,001*
Flavonóis totais (mg.100 ⁻¹)	38,24 ^c	42,80 ^b	63,37 ^a	13,14	<0,001	<0,001*
Rutina (mg.100 ⁻¹)	5,84 ^c	17,97 ^b	22,41 ^c	7,54	0,16	<0,001*
Quercitina ramnosídeo (mg.100 ⁻¹)	10,95 ^b	8,41 ^c	14,20 ^a	2,67	<0,05	<0,001*
Quercitina galactosídeo (mg.100 ⁻¹)	13,78 ^b	11,11 ^c	17,21 ^a	3,59	<0,05	<0,001*
Quercitina glucosídeo (mg.100 ⁻¹)	7,68 ^b	5,32 ^c	9,54 ^a	2,64	<0,001	<0,001*
CFT (mg.100 ⁻¹)	516,59 ^b	585,68 ^a	626,67 ^a	62,62	<0,05	<0,001*
FRAP (mmol.g)	30,35 ^b	31,96 ^b	40,87 ^a	9,41	<0,001	<0,05*

Nota – nd: não detectado ou valores abaixo do LOD; DPM: desvio padrão médio; *significativo a 95% de confiança; letras diferentes na mesma linha indicam diferença nas amostras.

O grupo 1 (0 kGy) obteve maiores valores nos parâmetros de cor, como a*, b* e C e não apresentou teores de epicatequina. O grupo 2 (2kGy) apresentou menores valores nos parâmetros de cor L* e °H, quercitina galactosídeo, quercitina glucosídeo e quercitina ramnosídeo e maiores teores de catequina. O grupo 3 (1 kGy) obteve

maiores teores de todas as classes e compostos fenólicos individuais, exceto para catequina. Os valores de CFT e FRAP também foram classificados neste grupo, confirmando as correlações positivas citadas. Esta ligação evidente não é surpreendente, porque os fenólicos são conhecidos como “sequestradores” de radicais livres (Zhang *et al.*, 2006).

4. CONCLUSÃO

Até o presente momento, estudos sobre o efeito da irradiação nos compostos fenólicos e atividade antioxidante do bagaço de maçã armazenado por longo período, não são encontrados na literatura.

A abordagem quimiométrica permite observar a influência da irradiação e do tempo de armazenamento nas amostras da farinha de bagaço de maçã em que o efeito da radiação gama, através do radioisótopo ^{60}Co apresenta resultados positivos. Notadamente, a dose de 1 kGy é a que proporciona os compostos fenólicos individuais e compostos fenólicos totais mais disponíveis, elevando o seu potencial antioxidante.

Durante o período de armazenamento ao longo dos 9 meses, conclui-se que independente da irradiação, ocorrem perdas gradativas praticamente em todos os parâmetros analisados. Com ressalva para a floredizina, que manteve teores constantes durante a pesquisa. O ácido clorogênico, bem como, a sua classe de ácidos hidroxicinâmicos aumentam proporcionalmente com o tempo nas amostras irradiadas.

Sendo assim, o bagaço de maçã irradiado é uma fonte rica de fitonutrientes e estáveis para alguns compostos fenólicos individuais e pode ser aplicado em produtos com alto valor agregado, visando economia e reduzindo o impacto ambiental.

REFERÊNCIAS

- AHARI MOSTAFAVI, H.; MAHYAR MIRMAJLESSI, S.; FATHOLLAHI, H.; SHAHBAZI, S.; MOHAMMAD MIRJALILI, S. Integrated effect of gamma radiation and biocontrol agent on quality parameters of apple fruit: An innovative commercial preservation method. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 91, n. 0, p. 193-199, 2013.
- AL-BACHIR, M. Studies on the physicochemical characteristics of oil extracted from gamma irradiated pistachio (*Pistacia vera* L.). **Food Chemistry**, v. 167, n. 0, p. 175-179, 2015.
- ALBERTI, A.; ZIELINSKI, A. A. F.; ZARDO, D. M.; DEMIATE, I. M.; NOGUEIRA, A.; MAFRA, L. I. Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 149, n. 0, p. 151-158, 2014.
- ALIGHOURCHI, H.; BARZEGAR, M.; ABBASI, S. Effect of gamma irradiation on the stability of anthocyanins and shelf-life of various pomegranate juices. **Food Chemistry**, v. 110, n. 4, p. 1036-1040, 2008.
- ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Effects of radiation processing on phytochemicals and antioxidants in plant produce. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 5, p. 201-212, 2009.
- AMORATI, R.; PEDULLI, G. F.; CABRINI, L.; ZAMBONIN, L.; LANDI, L. Solvent and pH effects on the antioxidant activity of caffeic and other phenolic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 8, p. 2932-2937, 2006.
- ANTONIO, A. L.; FERNANDES, Â.; BARREIRA, J. C. M.; BENTO, A.; BOTELHO, M. L.; FERREIRA, I. C. F. R. Influence of gamma irradiation in the antioxidant potential of chestnuts (*Castanea sativa* Mill.) fruits and skins. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 9, p. 1918-1923, 2011.
- AWAD, M. A.; DE JAGER, A.; VAN DER PLAS, L. H. W.; VAN DER KROL, A. R. Flavonoid and chlorogenic acid changes in skin of 'Elstar' and 'Jonagold' apples during development and ripening. **Sci. Hortic.**, v. 90, n. 1-2, p. 69-83, 2001.
- BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70 - 76, 1996.
- BOYER, J.; LIU, R. H. Apple phytochemicals and their health benefits. **Nutrition Journal**, v. 3, p. 5, 2004.
- BRAGA, C. M.; ZIELINSKI, A. A. F.; SILVA, K. M. D.; DE SOUZA, F. K. F.; PIETROWSKI, G. D. A. M.; COUTO, M.; GRANATO, D.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Classification of juices and fermented beverages made from unripe, ripe and senescent apples based on the aromatic profile using chemometrics. **Food Chemistry**, v. 141, n. 2, p. 967-974, 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada 899. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br>, 2003.

CAMARGO, A. C.; CANNIATTI - BRAZACA, S. G.; MANSI, D. N.; DOMINGUES, M. A. C.; ARTHUR, V. Efeitos da radiação gama na cor, capacidade antioxidante e perfil de ácidos graxos em amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, p. 11 - 15, 2011.

CANTERI, M. H. G.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G.; PETKOWICZ, C. L. D. O. **Characterization of Apple Pectin – A Chromatographic Approach**. 2012. Disponível em: < <http://www.intechopen.com/books/export/citation/EndNote/chromatography-the-most-versatile-method-of-chemical-analysis/characterization-of-apple-pectin-a-chromatographic-approach> >.

ČETKOVIĆ, G.; ČANADANOVIĆ-BRUNET, J.; DJILAS, S.; SAVATOVIĆ, S.; MANDIĆ, A.; TUMBAS, V. Assessment of polyphenolic content and in vitro antiradical characteristics of apple pomace. **Food Chemistry**, v. 109, n. 2, p. 340-347, 2008.

COELHO, L. M.; WOSIACKI, G. Avaliação sensorial de produtos panificados com adição de farinha de bagaço de maçã. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 30, p. 582-588, 2010.

DHILLON, G. S.; KAUR, S.; BRAR, S. K. Perspective of apple processing wastes as low-cost substrates for bioproduction of high value products: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, n. 0, p. 789-805, 2013.

DHILLON, G. S.; KAUR, S.; BRAR, S. K.; VERMA, M. Potential of apple pomace as a solid substrate for fungal cellulase and hemicellulase bioproduction through solid-state fermentation. **Industrial Crops and Products**, v. 38, n. 0, p. 6-13, 2012.

DIXON, J.; HEWETT, E. W. Factors affecting apple aroma/flavour volatile concentration: a review. **Crop Science and Horticulture**, v. 28, p. 155 - 173, 2000.

FAO. Food and Agricultural Organization. Disponível em: <http://www.fao.org>. Acesso em: 05 jun. 2014,

FARKAS, J.; MOHÁCSI-FARKAS, C. History and future of food irradiation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 2–3, p. 121-126, 2011.

FERNANDES, A.; BARREIRA, J. C. M.; ANTONIO, A. L.; BENTO, A.; BOTELHO, M. L.; FERREIRA, I. C. F. R. Assessing the effects of gamma irradiation and storage time in energetic value and in major individual nutrients of chestnuts. **Food Chemical Toxicological**, v. 49, p. 2429 - 2432, 2011.

GABRIEL, L. S. Aproveitamento tecnológico do bagaço de maçã como matéria-prima na elaboração de adoçante natural. **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Ponta Grossa**, 2009.

GARCIA, Y.; VALLES, B. S.; LOBO, A. P. Phenolic and antioxidant composition of by-products from the cider industry: Apple pomace. **Food Chem.**, v. 117, n. 4, p. 731-738, 2009.

GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; FARIA, J. A. F.; CRUZ, A. G. Characterization of Brazilian lager and brown ale beers on color, phenolic compounds, and antioxidant activity using chemometrics. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 3, p. 563 - 571, 2011.

GRANATO, D.; DE OLIVEIRA, C. C.; CARUSO, M. S. F.; NAGATO, L. A. F.; ALABURDA, J. Feasibility of different chemometric techniques to differentiate commercial Brazilian sugarcane spirits based on chemical markers. **Food Research International**, v. 60, p. 212-217, 2013.

GRANATO, D.; KATAYAMA, F. C. U.; DE CASTRO, I. A. Phenolic composition of South American red wines classified according to their antioxidant activity, retail price and sensory quality. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 366-373, 2011.

GRIGORAS, C. G.; DESTANDAU, E.; FOUGÈRE, L.; ELFAKIR, C. Evaluation of apple pomace extracts as a source of bioactive compounds. **Industrial Crops and Products**, v. 49, n. 0, p. 794-804, 2013.

HUANG, S.-J.; MAU, J.-L. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Agaricus blazei* with various doses of γ -irradiation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 39, n. 7, p. 707-716, 2006.

IAEA. International Atomic Energy Agency. Disponível em: <http://www.iaea.org>. Acesso em: 05 jun. 2013,

KONDO, S.; TSUDA, K.; MUTO, N.; UEDA, J. Antioxidative activity of apple skin or flesh extracts associated with fruit development on selected apple cultivars. **Sci. Hortic.**, v. 96, n. 1-4, p. 177-185, 2002.

LAVELLI, V.; CORTI, S. Phloridzin and other phytochemicals in apple pomace: Stability evaluation upon dehydration and storage of dried product. **Food Chemistry**, v. 129, n. 4, p. 1578-1583, 2011.

LEE, J. H.; SUNG, T. H.; LEE, K. T.; KIM, M. R. Effect of gamma irradiation on color, pungency and volatiles of Korean red pepper. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 8, p. 585-592, 2004.

LU, Y.; YEAP FOO, Y. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. **Food Chemistry**, v. 68, n. 1, p. 81-85, 2000.

MODENESE, D. Efeito da radiação gama e de tratamentos hidrotérmicos sobre as características físico-químicas, funcionais e nutricionais da farinha e do amido da farinha verde. **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, 2011.

NETO, C. C.; AMOROSO, J. W.; LIBERTY, A. M. Anticancer activities of cranberry phytochemicals: An update. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 52, n. S1, p. S18-S27, 2008.

PAGANINI, C.; NOGUEIRA, A.; SILVA, N. C.; WOSIACKI, G. Aproveitamento de bagaço de maçã para a produção de álcool e obtenção de fibras alimentares. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, p. 1231-1238, 2005.

PICINELLI, L. A.; GARCÍA, Y. D.; SÁNCHEZ, J. M.; MADRERA, R. R.; VALLES, B. S. Phenolic and antioxidant composition of cider. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, n. 7-8, p. 644-648, 2009.

PIERINI, R.; GEE, J. M.; BELSHAW, N. J.; JOHNSON, I. T. Flavonoids and intestinal cancers. **British Journal of Nutrition**, v. 99, n. 1, p. ES53-ES59, 2008.

PIRMOHAMMADIA, R.; ROUZBEHAN, Y.; REZAYAZDI, K.; ZAHEDIFAR, M. Chemical composition, digestibility and in situ degradability of dried and ensiled apple pomace and maize silage. **Journal of Food Engineering**, v. 80, n. 2, p. 536 – 544, 2007.

QUEJI, M. D.; WOSIACKI, G.; CORDEIRO, G. A.; PERALTA-ZAMORA, P. G.; NAGATA, N. Determination of simple sugars, malic acid and total phenolic compounds in apple pomace by infrared spectroscopy and PLSR. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, n. 3, p. 602-609, 2010.

RABETAFIKA, H. N.; BCHIR, B.; BLECKER, C.; RICHEL, A. Fractionation of apple by-products as source of new ingredients: Current situation and perspectives. **Trends in Food Science & Technology**, n. 0, 2014.

RENÉ, A.; ABASQ, M.-L.; HAUCHARD, D.; HAPIOT, P. How do phenolic compounds react toward superoxide ion? A simple electrochemical method for evaluating antioxidant capacity. **Analytical Chemistry**, v. 82, p. 8703–8710, 2010.

SATO, M. F.; VIEIRA, R. G.; ZARDO, D. M.; FALCÃO, L. D.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Apple pomace from eleven cultivars: an approach to identify sources of bioactive compounds. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, p. 29-35, 2010.

SAVATOVIĆ, S. M.; ĆETKOVIĆ, G. S.; DILAS, S. M.; TUMBAS, V. T.; ČANADANOVIĆ-BRUNET, J. M.; ČETOJEVIĆ-SIMIN, D. D.; MANDIĆ, A. I. Antioxidant and antiproliferative activity of Granny Smith apple pomace. **Acta Periodica Technologica**, v. 39, p. 201-212, 2008.

SCHIEBER, A.; HILT, P.; STREKER, P.; ENDREß, H.-U.; RENTSCHLER, C.; CARLE, R. A new process for the combined recovery of pectin and phenolic compounds from apple pomace. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 4, n. 1, p. 99-107, 2003.

SCHIEBER, A.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds — recent developments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 12, n. 11, p. 401-413, 2001.

SHAHIDI, F. Nutraceuticals, functional foods and dietary supplements in health and disease. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 20, n. SUPPL.1, p. 226-230, 2012.

SINGLETON, V.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144 - 158, 1965.

SOARES, M. C.; RIBEIRO, E. T.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L. V.; LIMA, A.; FILHO, J. M.; FETT, R. Composition of phenolic acids content in apple (*Malus* sp) pomace / Composição do conteúdo de ácidos fenólicos no bagaço de maçã (*Malus* sp). **Semina : Ciências Agrárias**, v. 29, n. 2, p. 339, 2008.

SONG, H.-P.; KIM, D.-H.; JO, C.; LEE, C.-H.; KIM, K.-S.; BYUN, M.-W. Effect of gamma irradiation on the microbiological quality and antioxidant activity of fresh vegetable juice. **Food Microbiology**, v. 23, n. 4, p. 372-378, 2006.

SUÁREZ, B.; GARCÍA, Y. D.; LOBO, A. P.; ÁLVAREZ, Á. L.; BARRIO, G. D.; PARRA, F. Phenolic profiles, antioxidant activity and in vitro antiviral properties of apple pomace. **Food Chemistry**, v. 120, n. 1, p. 339-342, 2010.

SUDHA, M. L.; BASKARAN, V.; LEELAVATHI, K. Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect on the rheological characteristics and cake making. **Food Chemistry**, v. 104, n. 2, p. 686-692, 2007.

TSAI, S.-Y.; TSAI, H.-L.; MAU, J.-L. Antioxidant properties of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea*, and *Boletus edulis*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 8, p. 1392-1402, 2007.

USDA. Economics, Statistics and Market Information System (ESMIS). **Disponível em www.usda.mannlib.cornell.edu. Acesso em 20 de março 2014,**

VEBERIC, R.; TROBEC, M.; STAMPAR, F.; HERBINGER, K.; HOFER, M.; GRILL, D. Phenolic compounds in some apple (*Malus domestica* Borkh) cultivars of organic and integrated production. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 10, p. 1687-1694, 2005.

VENDRUSCOLO, F.; RIBEIRO, C. S.; ESPÓSITO, E.; NINOW, J. L. Tratamento biológico do bagaço de maçã e adição em dietas para alevinos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 13, p. 487-493, 2009.

WANG, J.; CHAO, Y. Drying characteristics of irradiated apple slices. **Journal of Food Engineering**, v. 52, n. 1, p. 83-88, 2002.

WANG, L.-S.; STONER, G. D. Anthocyanins and their role in cancer prevention. **Cancer Letters**, v. 269, n. 2, p. 281-290, 2008.

WHO. World Health Organization. **Disponível em: <http://www.who.int>. Acesso em: 05 jun. 2014,**

WU, L.; MELTON, L. D.; SANGUANSRI, L.; AUGUSTIN, M. A. The batch adsorption of the epigallocatechin gallate onto apple pomace. **Food Chemistry**, v. 160, n. 0, p. 260-265, 2014.

YAN, H.; KERR, W. L. Total phenolics content, anthocyanins, and dietary fiber content of apple pomace powders produced by vacuum-belt drying. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 6, p. 1499-1504, 2013.

ZHANG, J. L.; STANLEY, R. A.; ADAIM, A.; METON, L. D.; SKINNER, M. A. Free radical scavenging and cytoprotective activities of phenolic antioxidants. **Mol. Nutr. Food Res.**, v. 50, n. 11, p. 996-1005, 2006.

ZIELINSKI, A. A.; ALBERTI, A.; MAIA BRAGA, C.; MARQUES DA SILVA, K.; GIOVANETTI CANTERI, M. H.; IGARASHI MAFRA, L.; GRANATO, D.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Effect of

mash maceration and ripening stage of apples on phenolic compounds and antioxidant power of cloudy juices: A study using chemometrics. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, n. 1, p. 223-229, 2014.

ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I.; ALBERTI, A.; NOGUEIRA, A.; DEMIATE, I. M.; GRANATO, D. A comparative study of the phenolic compounds and the in vitro antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. **Food Research International**, v. 60, n. 0, p. 246-254, 2014.