

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
Pró-Reitoria de Pesquisa e de Pós-Graduação
Programa de Pós graduação *stricto sensu*
Ciência e Tecnologia de Alimentos

LUCIANA SUTIL GABRIEL

**APROVEITAMENTO TECNOLÓGICO DO BAGAÇO DE MAÇÃ COMO
MATÉRIA-PRIMA NA ELABORAÇÃO DE ADOÇANTE NATURAL**

PONTA GROSSA

2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
Pró-Reitoria de Pesquisa e de Pós-Graduação
Programa de Pós graduação *stricto sensu*
Ciência e Tecnologia de Alimentos

LUCIANA SUTIL GABRIEL

**APROVEITAMENTO TECNOLÓGICO DO BAGAÇO DE MAÇÃ COMO
MATÉRIA-PRIMA NA ELABORAÇÃO DE ADOÇANTE NATURAL**

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós – Graduação *stricto sensu* da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Profº Dr. Gilvan Wosiacki

PONTA GROSSA

2009

Ficha Catalográfica Elaborada pelo Setor de Processos Técnicos BICEN/UEPG

G118a Gabriel, Luciana Sutil
Aproveitamento tecnológico do bagaço de maçã como
matéria-prima na elaboração de adoçante natural. / Luciana Sutil
Gabriel. Ponta Grossa, 2009.
134f.
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos .
Orientador: Prof. Dr. Gilvan Wosiacki

1. Extração. 2. Concentração. 3. Separação de misturas.
4. Adoçantes naturais. 5. Resíduos I. Wosiacki, Gilvan II.T

CDD: 634.11

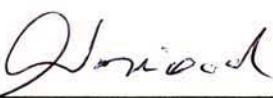
TERMO DE APROVAÇÃO

LUCIANA SUTIL GABRIEL

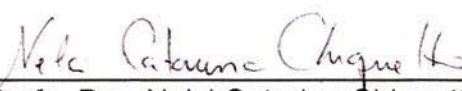
“ APROVEITAMENTO TECNOLÓGICO DO BAGAÇO DE MAÇÃ COMO MATÉRIA PRIMA
NA ELABORAÇÃO DE ADOÇANTE NATURAL ”

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

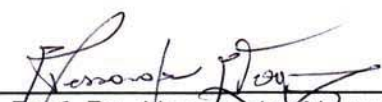
Ponta Grossa, 30 de Abril de 2009.



Prof. Dr. Gilvan Wosiacki
UEPG/PR



Profa. Dra. Nelci Catarina Chiquetto
UEPG/PR



Prof. Dr. Alessandro Nogueira
UEPG/PR



Profa. Dra. Patrícia Teixeira da Silva Padilha Penteado
UFPR/PR

Ponta Grossa
2009

AGRADECIMENTOS

A Deus, por dar-me força em todos os momentos difíceis.

Aos meus pais, pelo apoio e incentivo. Ao meu marido, pela compreensão, esforço, apoio e incentivo. Aos meus sogros pela confiança e apoio.

Ao meu orientador, Prof^o Dr. Gilvan Wosiacki, pelos ensinamentos passados, pela amizade, pela compreensão e pela brilhante orientação.

A Rosilene Prestes, minha quase co-orientadora, pelo apoio, pela amizade, pelo incentivo e ensinamentos transmitidos com tanta paciência.

Ao Prof^o Dr Luís Antonio Pinheiro do Departamento de engenharia de Materiais da UEPG, pelo auxílio, apoio, pela amizade.

Ao Prof^o Dr. Alessandro pelo apoio, auxílio e ensinamentos transmitidos.

A prof^a Dr Neiva Deliberali Rosso pelo apoio, auxílio e pela amizade.

A Rosilda pela companhia, amizade, auxílio. A Deise Simões, pela ajuda e atenção. Ao Giovanni e Acácio pela amizade, ajuda, paciência, colaboração. À Talita e ao Álvaro pelo auxílio e a todos os funcionários do Laboratório do Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela ajuda na condução dos experimentos.

Ao CNPQ pelo auxílio financeiro, incluindo bolsa de estudos e taxa de bancada.

A PROAP pelo apoio financeiro.

Ao Prof^o Dr Andersson Barison, Aline e Caroline, do Departamento de Química da UFPR, pelo auxílio, paciência e disponibilidade.

A prof^a Dr Carmen Lucia de Oliveira Petkowicz, do Departamento de Bioquímica da UFPR, pela ajuda e pelas informações passadas.

Aos funcionários do laboratório de Alimentos, Danianni, Denise e Rita pela amizade e auxílio.

A todos os amigos pelo convívio de vários anos, pelas palavras carinhosas de incentivo e ajuda neste trabalho.

A Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) e a todos os colegas e professores.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para o êxito do meu trabalho.

RESUMO

Considerado como resíduo na agroindústria da maçã, o bagaço constitui-se em matéria prima para a obtenção de componentes nobres, como minerais, ácidos orgânicos, compostos fenólicos, pectinas, açúcares e fibras dietéticas, assim como para a produção de álcool, de ácido cítrico, de vários tipos de enzimas e de metabólitos secundários. Para a transformação deste resíduo em matéria-prima, favorecendo a agregação de valores em produtos de interesse comercial, há necessidade de um processo de estabilização química e microbiológica do bagaço, que pode ser feita por desidratação. O processo de desidratação do bagaço de quatro diferentes variedades (Gala, Fuji, Catarina e Joaquina) foi conduzido em equipamento adiabático com ar aquecido a 90°C por seis horas (até início da perda de massa), seguido de uma etapa complementar a 52,5°C, temperatura da massa em secagem, até estabelecimento da umidade de equilíbrio, momento de interrupção do processo. O bagaço estabilizado foi usado para extração de frutose, glucose e sacarose, seus três principais açúcares solúveis, presentes em quantidade expressiva. Os métodos de recuperação destes açúcares compreenderam a extração aquosa à temperatura ambiente, a purificação pela despectinização hidroalcoólica e desionização por cromatografia de troca iônica, a concentração sob vácuo a baixa temperatura. A proporção ternária de frutose, glucose e sacarose foi confirmada por análise enzimática em cada etapa do processo e por HPLC no produto final, de concentração maior que 70°Brix. Os adoçantes obtidos das quatro variedades de maçã foram caracterizados instrumentalmente por RMN, FTIR – MID e analisados por procedimento multivariado PLS. Para permitir seu uso como adoçante natural, o poder edulcorante relativo à sacarose foi determinado, bem como suas características sensoriais quanto à aparência, aroma e sabor, avaliadas por oito julgadores e utilizando a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ). A aceitação foi determinada por técnica afetiva em escala de sete pontos. O bagaço desidratado apresentou umidade de equilíbrio de aproximadamente 8g/100g e a maior fração dos grânulos, após moagem e tamisação, passaram no crivo de 60 Mesh. A colorimetria CIELAB indicou uma luminosidade da ordem de 67, ultrapassando o limite, pois, de escuro/claro que se situa no valor 50. A etapa de extração aquosa dos açúcares do bagaço desidratado apresentou 26g de açúcares (100%), a etapa de eliminação do álcool 24g de açúcares (92,30%), a de troca iônica 21g de açúcares (80,77%) e a de concentração final 11,02g de açúcares (42,40%), com preservação da proporção ternária durante todo processo. A análise multivariada (PLS), correlação entre os dados obtidos por RMN, FTIR – MID, indicou $R_{val/sac}=0,99$; $R_{val/glu}=0,98$; $R_{val/fru}=0,98$. Através da análise sensorial o poder edulcorante do adoçante de maçã foi de 1,15 em relação a sacarose, apresentando aceitação de 75,70% e definido por doçura inicial e final, acidez, adstringência, aroma de maçã, cor amarelada e turbidez, segundo a ADQ. Com características sensoriais peculiares à categoria, além de boa aceitação, o adoçante de maçã, caracterizado instrumentalmente com elevada correlação e estável do ponto de vista microbiológico, apresenta-se como alternativa de aproveitamento de resíduos com inúmeras aplicações.

Palavras chaves: extração, concentração, separação de misturas, adoçantes naturais, resíduos.

ABSTRACT

Apple pomace, the main solid residue from the juice or cider processing of the Southern States of Brazil, may be used as raw material for extraction of minerals, organic acid, sugar and dietary fibers as well as for production of alcohol, citric acid and some kind of enzymes and secondary metabolites. This change of such residue into raw material with a high economic value requires its chemical and microbiological stabilization, usually done by dehydration. Such dehydration process of apple pomace from four different varieties (Gala, Fuji, Catarina and Joaquina) were done in an adiabatic equipment following a procedure that comprises heated circulating air at 90°C during six hours and an additional step at 52,5°C until the mass temperature start rising what indicates the end of the drying. The stabilized apple pomace was used to extract sucrose, glucose and fructose, their three main soluble sugars, present in high amount. The procedure to recover this sweetener comprehends aqueous extraction at room temperature, purification by hydroalcoholic despectinization, and deionization by ion exchange chromatography and concentration at vacuum and low temperature. The relative proportion of these sugars were confirmed by enzymatic analysis in each step of the process and by HPLC at the final product, concentrated up to 70°Brix. The sweeteners from the four varieties were characterized instrumentally by NMR, FTIR MID with the data analyzed by multivariate procedure PLS. Aiming to allow the use of this product as a natural sweetener it were further evaluated to know the relative sucrose sweetener power, as well as its characteristics of appearance, flavor and taste evaluated by eight judges using the Quantitative Descriptive Analysis (QDA). The acceptances were determined by affective techniques in a scale of 7. The dried pomace has an average of 8g/100g as equilibrium moisture and after ground and sieved the dried pomace retained at 60 Mesh. The colorimetry CIELAB showed a Luminosity of 67, overcoming 50, the limit of dimness/bright. The step of aqueous extraction of sugars from the dried pomace showed 26g of sugars (100%), the step of hydroalcoholic despectinization 24g of sugars (92,3%), the deionization by ion exchange chromatography 21g of sugars (80,77%) and the step of concentration at vacuum 11,02g of sugars (42,40%), with conservation of relative proportion during all the process. The multivariate analysis (PLS), correlation between the dates from NMR and IR, showed $R_{val/sac}=0,99$; $R_{val/glu}=0,98$; $R_{val/fru}=0,98$. Though the sensory evaluation the relative sucrose sweetener power found to be 1,15, with acceptance of 75,70% and defined as acidity, astringency, apple flavor, yellow color and turbidity by QDA. With single sensory characteristics to the category, beyond the good acceptance, the apple sweetener characterized instrumentally with high correlation and microbiologically stable, is an alternative the use of wastes with many applications.

Key words: Extraction, concentration, blend separation, natural sweeteners, residue.

LISTA DE SIGLAS

RMN		Ressonância Magnética Nuclear
R_{cal}		Razão entre duas somas quadráticas, uma de regressão e outra total, para calibração dos dados
R_{val}		Razão entre duas somas quadráticas, uma de regressão e outra total, para validação dos dados
FTIR - MID		Espectroscopia de Infravermelho Médio
HPLC		Cromatografia Líquida de Alta Pressão
HFS		<i>High Fructose Syrup</i>
HMF		Hidroximetilfurfural
GRAS		Generally Recognized as Safe
JECFA		The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
a_w		Atividade de água
P_w		Pressão parcial de vapor de água
P_{sat}		Pressão parcial de vapor de água pura à mesma temperatura
UR		Umidade Relativa
D		Constante dielétrica
F		Força de atração entre dois íons de cargas contrárias
e_1, e_2		Carga de íons
r		Distância entre os íons
CI		Cromatografia de Íons
CTI		Cromatografia por Troca Iônica
CPI		Cromatografia por Par Iônico

CTID		Cromatografia por Troca Iônica Dinâmica
CII		Cromatografia por Integração de Íons
CEI		Cromatografia por Exclusão de Íons
CQI		Cromatografia por Quelação de Íons
$-I$		Número quântico de spins
m		Estados quânticos magnéticos observáveis em RMN
h		Constante de Planck
ATR		Reflectância Total Atenuada
PCA		Análise de Componentes Principais
HCA		Análise Hierárquica de Grupamentos
PLS		Regressão por Mínimos Quadrados Parciais
FA		Análise de Fatores
DA		Análise Discriminante
LDA		Análise Discriminante Linear
CDA		Análise Discriminante Canônica
QDA		Análise Discriminante Quadrática
DVB		Divinilbenzeno
DMSO-d6		Dimetilsulfóxido
TMS		Tetrametilsilano
D ₂ O		Água deuterada
ADQ		Análise Descritiva Quantitativa
P _{ed}		Poder Edulcorante
S		Sensação sensorialmente percebida por um estímulo
a		Antilog do valor de y no intercepto

C		Concentração do estímulo que produz a sensação
n		Coeficiente angular da reta obtida

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Fluxograma de aproveitamento do bagaço de maçã na empresa Herbstreith & Fox	24
Tabela 1	Solventes usados para extração de componentes dos alimentos	46
Figura 2	Diagrama representativo do ponto supercrítico do CO ₂ , em 31°C e 73 atm	47
Tabela 2	Comparação da eficiência energética de diferentes técnicas de evaporação	48
Tabela 3	Constante dielétrica <i>D</i> de alguns líquidos (20°C) 	50
Tabela 4	Tipos de resina de troca iônica e faixas de pH em que são ativas	52
Figura 3	Representação esquemática de troca de cargas ocorridas na superfície de resinas de troca iônica	54
Figura 4	Quantização vetorial do momento angular de <i>spin</i> 	58
Figura 5	Modelo de ficha aplicada para determinar a concentração ideal de sacarose	73
Tabela 5	Concentrações das soluções padrões dos quatro gostos utilizados	73
Quadro 1	Identificação de três classes de odores 	74
Figura 6	Modelo de ficha aplicada no teste triangular para a seleção dos candidatos	74

Figura 7	Gráfico utilizado para a seleção dos provadores através da análise seqüencial de Wald	75
Tabela 6	Concentrações utilizadas de adoçante para a determinação da equivalência de doçura em solução de sacarose a 7,50%	76
Figura 8	Modelo da ficha aplicada para a Estimativa de Magnitude do adoçante de maçã	77
Quadro 2	Definições e referências para os termos descritivos usados na análise sensorial	78
Figura 9	Modelo de ficha aplicada para a avaliação dos atributos sensoriais do adoçante de maçã	79
Figura 10	Modelo de ficha aplicada para determinar a aceitação do adoçante de maçã	81
Tabela 7	Domínio do delineamento experimental fatorial 3^2 , composto axial com ponto central (3 fatores, 1 bloco, 16 experimentos	81
Tabela 8	Rendimento do processamento de suco de maçã 	83
Figura 11	Monitoramento do processo de desidratação. (A) Temperatura da massa de bagaço, (B) Perda de massa	84
Tabela 9	Dados da temperatura de secagem e da temperatura de estabilidade da massa de bagaço correspondente	84
Figura 12	Desidratação do bagaço de maçã. (A) perfil do processo com temperatura inicial de 90°C e etapa complementar a 52,5°C. (B) claridade (L) do bagaço seco, moído e tamisado	85

Figura 13	Análise de componentes principais dos parâmetros 87 colorimétricos L , a e b (A) Gráfico de escores (B) Diagrama de peso	
Figura 14	Dendrograma das granulometrias relativas a cada 88 tamanho de corte do bagaço	
Figura 15	Distribuição granulométrica do bagaço seco, moído 89 e tamizado	
Figura 16	Fluxograma de obtenção do adoçante de maçã 90	
Figura 17	Cromatograma por HPLC dos açúcares presentes 93 no adoçante de maçã Gala	
Figura 18	Espectrograma por ¹ H-RMN (400 MHz) do 94 adoçante de maçã Gala (A), Joaquina (B), Fuji (C) e Catarina (D)	
Figura 19	Espectrograma por ¹ H-RMN (400 MHz). (A) 95 Adoçante de maçã Gala (B) Expansão dos picos correspondentes à D ₂ O, sacarose (*) e glucose (+)	
Figura 20	Espectrograma por ¹ H-RMN (400 MHz) com 96 expansão de todos os picos correspondentes à glucose (+), frutose (x) e sacarose (*)	
Tabela 10	Dados quantificados por RMN para os açúcares 97 frutose, glucose e sacarose	
Figura 21	Análise de componentes principais dos açúcares 98 padrões e adoçantes das quatro variedades. (A)	

Gráfico dos escores, exibindo os quatro adoçantes e as concentrações de 30×10^{-2} ; 275×10^{-3} ; 25×10^{-2} ; 20×10^{-2} e 175×10^{-2} mg, com aumento da esquerda para a direita, de cada açúcar padrão (B) Diagrama de pesos

Figura 22	Dendograma do agrupamento entre as amostras e os açúcares padrões, obtidos por RMN	99
Figura 23	Espectrograma por FTIR (MID) do adoçante de maçã Gala (A), Joaquina (B), Fuji (C) e Catarina (D)	100
Figura 24	Espectrograma por FTIR (MID) das quatro concentrações de cada açúcar padrão: sacarose (A), frutose (B) e glucose (C), para a construção das curvas de calibração	101
Figura 25	Relação obtida por PLS entre os valores medidos x preditos em FTIR (MID) para sacarose (A), glucose (C) e frutose (E), usada para a previsão da concentração destes nas amostras. Correlação obtida por PLS para a faixa significativa de: sacarose (B), glucose (D) e frutose (F)	102
Tabela11	Valores de R_{cal} e R_{val} para os açúcares padrões, obtidos por PLS	103
Tabela12	Dados obtidos por predição em FTIR dos modelos obtidos dos padrões de frutose, glucose e sacarose	104

Figura 26	Análise multivariada dos resultados instrumentais.	105
	(A) Relação obtida por PLS entre os valores medidos x preditos para a sacarose, determinada por FTIR (MID) e RMN (B) Magnitude dos coeficientes obtida pela faixa significativa do PLS entre FTIR (MID) e RMN, para a sacarose	
Figura 27	Análise multivariada dos resultados instrumentais.	105
	(A) Relação obtida por PLS entre os valores medidos x preditos para a glucose, determinada por FTIR (MID) e RMN (B) Magnitude dos coeficientes obtida pela faixa significativa do PLS entre FTIR (MID) e RMN, para a glucose	
Figura 28	Análise multivariada dos resultados instrumentais.	106
	(A) Relação obtida por PLS entre os valores medidos x preditos para a glucose, determinada por FTIR (MID) e RMN. (B) Magnitude dos coeficientes obtida pela faixa significativa do PLS entre FTIR (MID) e RMN, para a frutose	
Figura 29	Histograma das frequências de respostas para a solução de 7,50% de sacarose	108
Tabela 13	Resultados do teste de estimação de magnitude para determinar a equivalência de doçura do adoçante de maçã em relação à sacarose a 7,50%	109

Tabela 14	Níveis de probabilidade de amostras e provadores para os atributos sensoriais do adoçante de maçã – treinamento	110
Tabela 15	Perfil sensorial, representando a média dos atributos do adoçante de maçã	111
Figura 30	Médias e níveis de probabilidade de repetições e julgadores para os atributos sensoriais do adoçante de maçã	112

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	18
2.	OBJETIVOS	21
2.1	OBJETIVO GERAL	21
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3.	REVISÃO	22
3.1	PADRÃO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE ADOÇANTES	22
3.2	BAGAÇO DE MAÇÃ	23
3.3	FONTES CONVENCIONAIS DE AÇÚCAR	26
3.3.1	Açúcar de cana-de-açúcar	26
3.3.2	Açúcar de beterraba	27
3.3.3	Açúcar de milho – <i>High Fructose Syrup (HFS)</i>	29
3.3.4	Açúcar invertido	31
3.3.5	Edulcorantes naturais	34
3.4	PROCESSOS	40
3.4.1	Secagem	40
3.4.2	Extração sólido-líquido	44
3.4.3	Evaporação	47
3.4.4	Floculação de biomassas	50
3.4.5	Troca iônica	51
3.5	Análises instrumentais e multivariada	57
3.5.1	Ressonância magnética nuclear (RMN)	57
3.5.2	Espectroscopia de Infravermelho Médio com transformada de Fourier (FTIR)	59

3.5.3	Análise Multivariada	60
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	62
4.1	MATERIAL	62
4.1.1	Matéria-Prima	62
4.1.2	Equipamentos	62
4.1.3	Resinas	62
4.2	MÉTODOS	63
4.2.1	Processos	63
4.2.2	Análises	65
4.2.3	Delineamento experimental	81
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	82
5.1	ESTABILIZAÇÃO	82
5.1.1	Rendimentos	82
5.1.2	Influência da Temperatura no Processo	83
5.1.3	Processo de Desidratação	84
5.1.4	Protocolo de Secagem	85
5.1.5	Aparência	86
5.1.6	Granulometria	88
5.1.7	Teor de Açúcares Redutores Totais	89
5.2	OBTENÇÃO DO ADOÇANTE DE MAÇÃ	89
5.2.1	Processo	89
5.2.2	Produto	92
5.3	CARACTERIZAÇÃO INSTRUMENTAL DO ADOÇANTE DE MAÇÃ	93
5.3.1	Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	94

5.3.2	Espectroscopia de Infravermelho Médio com Transformada de Fourier (FTIR)	100
5.3.3	Correlação por Análise Multivariada	104
5.4	Caracterização Sensorial do Adoçante de Maçã	107
5.4.1	Concentração Ideal de Sacarose	107
5.4.2	Pré-seleção da Equipe de Julgadores	108
5.4.3	Equivalência de Doçura	108
5.4.4	Termos Descritivos e Treinamento dos Provadores	110
5.4.5	Avaliação da Amostra	111
5.4.6	Aceitação	113
6.	CONCLUSÕES	115
	REFERÊNCIAS	116
	ANEXO A – PROTOCOLO EMITIDO PELO COMITÊ DE ÉTICA DA UNIVERSIDADE	131

1. INTRODUÇÃO

A produção de maçãs, no Brasil, visa atender o mercado de consumo *in natura* e as frutas desclassificadas no processo de beneficiamento são destinadas ao processamento industrial. De uma forma geral, 70% da produção é comercializada no mercado varejista enquanto 30% das maçãs, desqualificadas, são consideradas frutas industriais que compreendem 1/3 de frutas de má qualidade, descartadas ou destinadas à fermentação e 2/3 que podem ser usadas como matéria-prima no processamento de suco, geléia, pectina.

Do processamento de maçãs o bagaço gerado constitui um problema de impacto ambiental e econômico, uma vez que representa de 20-40% da quantidade total de matéria-prima. Por apresentar uma composição de elevado valor nutricional e alta umidade, o bagaço, subproduto gerado na agroindústria da maçã, torna-se susceptível à deterioração por microrganismos. A otimização do processamento das maçãs ou a utilização de um sistema enzimático, pode maximizar a extração do suco e reduzir o volume de bagaço.

Em vista da composição apresentada pelo bagaço, uma lista de aplicações pode ser proposta, como: produções biotecnológicas, produção de etanol, extração das fibras, extração de aromas, entre outras. Com isso o problema de geração de resíduos seria reduzido, visto que no Brasil a utilização do bagaço é limitada à adubação e ração animal.

Na sua composição nutricional, destaque deve ser dado aos açúcares que representam cerca de 30-40% do bagaço seco, que é uma matéria-prima de processamento múltiplo, conduzindo a vários produtos finais. A porção composta por frutose, glucose e sacarose é destacada por corresponder a 29,60-39,60% dos açúcares presentes, e assim, exibir bioatividade e elevado sabor doce aliado ao baixo valor calórico, além de induzir baixo impacto na glicemia humana. Com estas características, um adoçante natural, composto por glucose, frutose e sacarose torna-se uma alternativa aos adoçantes sintéticos. Uma

característica percebida durante o trabalho, na etapa de análise sensorial, o aroma de maçã é um atributo que merece destaque e possibilidade de aplicação específica, uma vez que, após várias etapas de processo, apresenta-se ressaltado em comparação ao bagaço seco, sendo descrito como agradável.

No Brasil existem diversos adoçantes comerciais com estes edulcorantes sendo que os mais vendidos apresentam proporção de duas partes de ciclamato para uma de sacarina. Com relação aos adoçantes “naturais”, a maioria apresenta edulcorantes artificiais associados à sua formulação.

Dentre os edulcorantes os xaropes de alto teor de frutose, HFS (*High Fructose Syrup*), são muito utilizados na indústria, principalmente em bebidas carbonatadas. Outros edulcorantes têm sido estudados buscando aliar fonte natural de obtenção, elevado poder edulcorante e baixo índice glicêmico. Consoante a esta tendência, um adoçante de maçã, composto por sacarose, glucose e frutose, torna-se uma alternativa de mercado, uma vez que seu poder adoçante é potencializado devido à elevada concentração de frutose, podendo ser utilizado como substituto da sacarose. Além disso, o produto, totalmente natural, apresenta baixas calorias e baixo índice glicêmico.

Com a perspectiva de agregar valor econômico ao bagaço industrial de maçã torna-se interessante a extração, purificação e concentração da fração glucose, frutose e sacarose. Com os resultados desta pesquisa tenciona-se sensibilizar o setor industrial no sentido de investir na solução da problemática ligada à sanidade da matéria-prima, a fim de que possa ser usado o bagaço de maçã industrial como matéria-prima para a produção de um adoçante natural com apelo comercial e funcional.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um adoçante natural de maçã a partir dos açúcares solúveis residuais do bagaço de maçã.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estabelecer o protocolo de beneficiamento de bagaço gerado no processamento de suco de maçã em escala de laboratório, considerando as influências da temperatura e do tempo de secagem;

Determinar o perfil de qualidade, considerando a composição ternária de açúcares (frutose, glucose e sacarose) e aparência do produto final;

Determinar os melhores procedimentos de extração aquosa de frutose, glucose e sacarose do bagaço desidratado;

Concentrar o adoçante de maçã por evaporação a vácuo para atingir uma atividade de água que não permita o desenvolvimento microbiano;

Estabelecer os procedimentos de purificação da fração açúcar mediante resinas de troca iônica e despectinização hidroalcoólica;

Estabelecer o grau de pureza do adoçante de maçã considerando os critérios de composição ternária de açúcares neutros, ausência de ácidos orgânicos e compostos fenólicos por RMN, FTIR; HPLC;

Determinar o perfil de qualidade do produto final por métodos sensoriais compreendendo análise sensorial afetiva e análise quantitativa descritiva.

3. REVISÃO

Esta revisão abrange desde os processos de obtenção de açúcares comerciais até técnicas de análise dos perfis de qualidade, compreendendo edulcorantes disponíveis no mercado e as metodologias do protocolo para a obtenção do adoçante a partir de bagaço de maçã. Destaca aspectos do açúcar comum, obtido de duas grandes fontes, cana-de-açúcar e beterraba, bem como do xarope de alto teor de frutose e dos edulcorantes, sintéticos e naturais. Os edulcorantes naturais apresentam potencial de mercado face aos movimentos em prol da Tecnologia Limpa e Química Verde.

Compreende também os princípios da extração sólido-líquido, responsável pela separação dos compostos solúveis; da evaporação, presente em duas etapas, sendo importante para a inocuidade microbiológica do produto, de floculação de biomassa e troca iônica, responsáveis pela pureza do adoçante, através da eliminação da pectina e de cargas positivas e negativas. Como métodos para aferição da pureza e quantificação dos açúcares, as técnicas de RMN, FTIR, e HPLC foram aplicadas.

3.1 PADRÃO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE ADOÇANTES

Segundo a ANVISA, o produto adoçante de maçã pode ser enquadrado no grupo “Adoçante de mesa”, o qual apresenta padrão de identidade e qualidade fixados pela Portaria nº 38, de 13 de janeiro 1998. Esta define adoçantes de mesa como produtos formulados para conferir o sabor doce aos alimentos e bebidas, podendo conter e ser formulados à base de edulcorantes naturais e/ou artificiais, desde que permitidos pela legislação. Os aditivos permitidos em sua formulação encontram-se especificados e quantificados pela Portaria nº 39, de 13 de janeiro de 1998. O padrão microbiológico para alimentos, edulcorantes, adoçantes de mesa e similares, descrito pela Resolução da ANVISA- RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001,

estabelece que tolera-se 2 UFC/g de coliformes a 35°C em amostra indicativa, e em amostra representativa de 5 elementos, um deles pode conter no máximo 2 UFC/g de coliformes a 35°C.

3.2 Bagaço de maçã

Na Alemanha, a produção de maçãs destinadas a fabricação de suco atinge aproximadamente 700.000 toneladas por ano e destas 250.000 toneladas de bagaço úmido de maçã são gerados, consistindo no principal subproduto. Este bagaço apresenta diversas possibilidades de aproveitamento, como a produção de adoçantes naturais, Herbasweet e Herbarom, o primeiro apresentado em duas concentrações e incolor e o segundo com coloração escura, obtidos segundo processo da Figura 1 (ENDREß, 2000). Kennedy et al. (1999), estudaram as várias aplicações do bagaço de maçã e observaram que com isso o impacto ambiental pode ser reduzido, além de elevar o valor comercial.

No Brasil, com a pouca quantidade pesquisa na área, o bagaço é considerado resíduo, sem valor econômico, consistindo em sério problema, uma vez que permanecendo úmido, logo fermenta apresentando crescimento de microorganismos contaminantes e inviabilizando assim seu uso posterior (RAUPP et al., 2000).

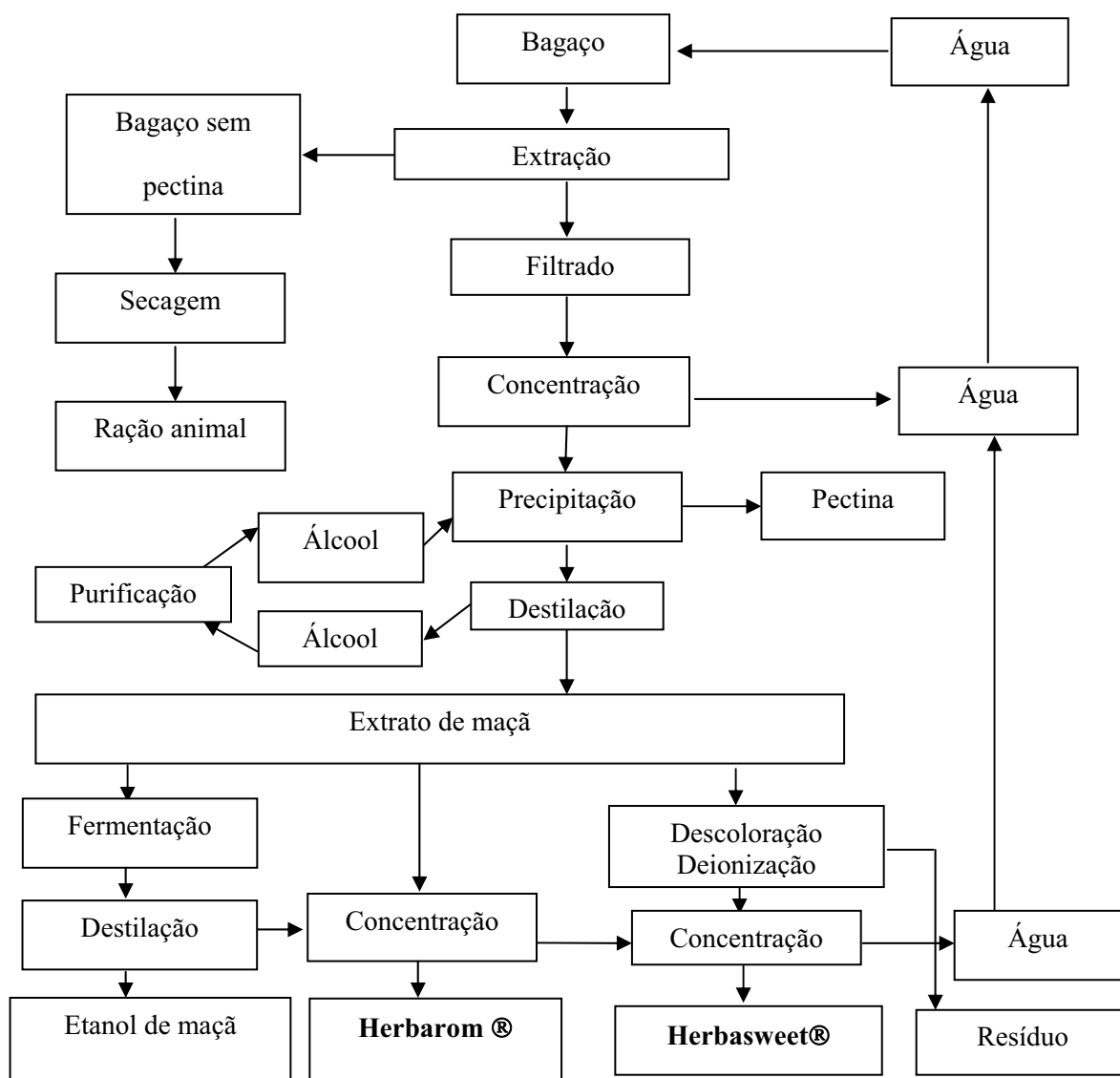


Figura 1 - Fluxograma de aproveitamento do bagaço de maçã na empresa Herbreith & Fox

FONTE: Endress, (2000).

Estudos realizados com o bagaço incorporado das sementes apresentaram-no como sendo uma rica fonte de polifenóis (LU; FOO, 1997; LU; FOO, 1998; FOO; LU, 2000; SCHIEBER et al., 2001), sendo que alguns dos constituintes fenólicos, principalmente procianidinas e glicosídeo quercitina, tem mostrado elevada atividade antioxidante *in vitro* (LU; FOO, 2000).

A proliferação de tumores tem sido fortemente inibida por aplicação de extratos de maçã, *in vitro*. Estes efeitos são atribuídos aos fenóis e flavonóides (EBERHARDT; LEE; LIU, 2000). Assim, 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. Outros estudos, desenvolvidos por Tsurumi et al. (2001) mostraram que o *flavour* obtido do bagaço de maçã é muito semelhante ao *flavour* de uma maçã natural, podendo ter grande aplicação em geléias ou como aromatizante.

As aplicações atuais do bagaço de maçã compreendem, fonte de pectina (HWANG; KIM; KIM, 1998), alimentação animal (SANDHU; JOSHI, 1997), fonte de fibras dietéticas (LEONTOWICZ; GORINSTEIN; BARTNIKOWSKA; LEONTOWICZ; KULASEK; TRAKHTENBERG, 2001) e fonte de compostos fenólicos (SCHIEBER; HILT; BERARDINI; CARLE, 2004). Uma alternativa segundo Endreß (2000), seria a liquefação enzimática do bagaço despectinizado, com isolamento de flavonóides e açúcares neutros, com aplicações como suplementos alimentícios e adoçantes. Os adoçantes podem ser comercializados de duas formas; uma como adoçante colorido de maçã, na qual o extrato aquoso de açúcares é concentrado até 65 – 70° Brix e a outra como adoçante incolor de maçã, com remoção da cor e do *flavour* do extrato aquoso de açúcares, por desionização, seguido de concentração até 70 – 80° Brix. Como analisado também por Kennedy et al. (1999), o bagaço é um subproduto muito rico em açúcares, representando cerca de 30-40% da sua composição. Este conteúdo sugere aplicações específicas como adoçante, xarope, concentrado.

3.3 FONTES CONVENCIONAIS DE AÇÚCAR

3.3.1 Açúcar de cana-de-açúcar

A importância da cana de açúcar pode ser atribuída à sua múltipla utilização, sendo empregada *in natura*, sob a forma de forragem, para alimentação animal, ou como matéria prima para a fabricação de rapadura, melado, aguardente, açúcar e álcool (MAULE; MAZZA; MARTHA JR., 2001). No Brasil, em menos de 1% das áreas agricultáveis são cultivados 5,0 milhões de hectares de cana, com produtividade média de 73,4 t ha⁻¹, sendo com isso o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, com 27% da produção total, seguido pela Índia e pela Austrália.

A produção mundial de cana-de-açúcar está diretamente relacionada com a produção de açúcar e encontra na beterraba açucareira seu competidor mundial. Os países da União Européia subsidiam a produção do açúcar de beterraba para reduzir os gastos com as importações do açúcar de cana produzido nos trópicos (MINISTÉRIO DAS RELAÇÕES EXTERIORES, 2000).

Entre as outras culturas brasileiras, pelos produtos e subprodutos que gera, é considerada uma das mais importantes atividades agrícolas do país (INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO AGROINDUSTRIAL, 1998). Na média, 55% da cana brasileira é convertida em álcool e 45% em açúcar. Como a cultura é explorada no Centro-Sul e no Norte-Nordeste, há dois períodos de safra, com uma produção durante todo o ano e, dependendo do momento de plantio, a cana demora de um ano a um ano e meio para ser colhida e processada pela primeira vez. A mesma cana pode ser colhida até cinco vezes, mas a cada ciclo devem ser feitos investimentos significativos para manter a produtividade (VEIGA FILHO, 1998).

Consiste numa matéria-prima que permite a produção de energia natural, limpa e renovável. A cana é, em si mesma, usina de enorme eficiência: cada tonelada tem potencial energético equivalente ao de 1,2 barris de petróleo (VEIGA FILHO, 1998).

O açúcar é extraído do caldo proveniente do esmagamento da cana-de-açúcar, com posterior branqueamento, decantação, evaporação, flotagem e cristalização. Existem diversos tipos de açúcar para vários destinos, seja consumidor final (refinarias) ou os outros segmentos do mercado industrial de alimentos e bebidas, cada qual com seu valor no mercado, além das *tradings* (companhias comerciais de grande porte que se dedicam ao comércio exterior), principal canal de exportação. Da sucroquímica pode ser obtido glucose, frutose, glicerina, ácidos, sorbitol, sucralose, entre outros. De outras fermentações podem ser obtidos acetona, antibióticos (penicilina, tetraciclina), enzimas industriais (amilases, proteases), vitaminas (C, B2, B12), aminoácidos (lisina, fenilalanina) e insumos biológicos para a agricultura, bioinseticidas e fertilizantes (WAACK; NEVES, 1998).

O bagaço, resíduo da cana depois da extração do suco, é aproveitado após hidrólise, juntamente com a levedura da cana (resíduo da fermentação), em rações para a alimentação do gado confinado. A vinhaça ou vinhoto, outro resíduo, também pode ser usada como adubo, e no Brasil muitas vezes é lançada aos rios, causando impacto ambiental. Outros problemas ambientais podem ocorrer como a queimada das palhas e o uso de fogo na própria cultura, o que conduz à aumento na utilização de fertilizantes químicos e orgânicos, além de causar erosão no solo (COOPERCITRUS, 2000; NERY, 2000).

3.3.2 Açúcar de beterraba

Embora a beterraba, um vegetal de raiz grande que consta na história desde 4.000 anos atrás, seja cultivada como alimento e forragem desde a Antiguidade, seu uso como fonte de

açúcar é considerado recente. Em 1.590 o botânico Olivier de Serres extraiu um xarope doce de beterrabas, porém não se tornou uma prática comum. Em 1.747 o químico prussiano Andreas Sigismund Marggraf usou álcool para extrair açúcar de beterrabas, mas seus métodos não foram aceitos por não serem economicamente atrativos para a indústria. Somente em 1.786 foi iniciada a produção industrial de açúcar, mas os custos e a produtividade não trouxeram os resultados esperados (AMERICAN SUGAR BEET GROWERS ASSOCIATION, 1998).

Os países produtores de açúcar de beterraba, que corresponde a 40% da produção de açúcar do mundo (FAO, 2005), geralmente não atendem a demanda, necessitando assim importar açúcar de outros países (CHEMELLO, 2005). Um dos problemas enfrentados em seu cultivo é a rizomania ¹, doença que torna as raízes improcessáveis, requerendo assim planta mais resistentes, obtidas com o desenvolvimento de modificações genéticas (SMITH, 1987). Outro desafio enfrentado é o custo para manter o cultivo, uma vez que o açúcar obtido da cana é comercializado a um preço inferior, o que inviabiliza a competição (BOGETOFT; BOYE; NEERGAARD-PETERSEN; NIELSEN, 2007).

Assim como da extração de açúcar da cana, que gera vários subprodutos, a extração de açúcar da beterraba também gera vários subprodutos com valor agregado. Pode-se citar: biocombustível (butanol), bebidas alcoólicas, xaropes concentrados de açúcar, corantes naturais (betalainas), lâminas de beterraba para alimentação animal (SUGAR BEET RESEARCH AND EDUCATION BOARD, 1998).

Até a última metade do século XX a produção da beterraba sacarina era difícil, devido à grande quantidade de erva-daninha e a necessidade de mão-de-obra para a colheita. Embora as raízes pudessem ser removidas por um dispositivo puxado por cavalos, o restante do

¹ Doença causada por um vírus, *furovirus*, que forma necroses na forma de veias amareladas na raiz de beterraba.

tratamento das raízes era realizado a mão. A semeadura mecanizada, as aplicações de herbicida para o controle da erva-daninha, a colheita mecânica, além da existência de variedades de beterraba que não necessitam das operações de desbaste, suprimiram o emprego de mão-de-obra assalariada nesta prática agrônômica. No que diz respeito ao rendimento de açúcar o progresso é, sobretudo, indireto: melhorias na germinação das sementes associadas às novas técnicas de semeadura (SMITH, 1987).

Em relação à produtividade, a extração de açúcar da cana-de-açúcar apresenta um percentual de 60%, já na beterraba este percentual cai para 15% - 20%, sendo mais vantajoso economicamente produzir açúcar de cana. O que impede o efetivo cultivo em alguns países é o clima, uma vez que a cana-de-açúcar se desenvolve em regiões de clima tropical. Com isso, Rússia, países da União Européia e Estados Unidos, os maiores produtores de beterraba sacarina do mundo, estão constantemente em busca de otimização e melhoramento dos processos de extração de açúcar da beterraba, em vista de maior rendimento. Dentre estes, somente Ucrânia e os países da União Européia figuram no mercado como exportadores significativos de açúcar de beterraba (CHEMELLO, 2005).

3.3.3 Açúcar de milho – *High Fructose Syrup* (HFS)

A despolimerização do amido em subunidades conhecidas como dextrose foi uma alternativa atraente ao uso da sacarose. Avanços na tecnologia de refinamento, de isomerização e de separação possibilitaram, na década de 60, a produção de xarope de alto teor de frutose, HFS (*High Fructose Syrup*), a partir do amido de milho. Entretanto por apresentar baixo poder edulcorante, a dextrose não é um eficiente substituto à sacarose, principalmente em bebidas. A facilidade de manipulação e o baixo custo deste adoçante sob a forma líquida aceleraram sua aceitação em bebidas e alimentos. O desenvolvimento na

tecnologia de cristalização conduziu à disponibilidade de frutose seca e cristalina, que apresenta inúmeras vantagens. Embora a sacarose extraída de beterraba, arroz, trigo, batata e mandioca possa ser usada para produzir HFS (*High Fructose Syrup*), o milho é a matéria-prima mais utilizada para esta finalidade, pois apresenta baixo custo devido sua elevada produção e grande estabilidade (HANOVER; WHITE, 1993; MAYES, 1993).

Muitos *High Fructose Syrup* diferentes foram produzidos inicialmente para atender a necessidade da indústria de refrigerantes, porém após várias pesquisas e otimizações nos processos, o xarope contendo 55 % de frutose foi determinado como o mais aceito comercialmente, sendo utilizado também em sorvetes e sobremesas congeladas. O xarope com 42 % de frutose é utilizado em frutas enlatadas, condimentos e outros alimentos processados que necessitem dulçor moderado para não mascarar os sabores naturais. O xarope super doce, HFS (*High Fructose Syrup*) 90 %, é utilizado em alimentos naturais e *light*, nos quais é aplicado em pequena quantidade, para promover o dulçor necessário. A capacidade da frutose cristalina em produzir um excelente adoçante em combinação com outros açúcares torna-a de grande aplicação em cereais, bebidas instantâneas e outros produtos de misturas secas (CORN REFINERS ASSOCIATION, 2002; GRATÃO, BERTO, SILVEIRA JÚNIOR, 2004).

A frutose apresenta muitos atributos físicos e funcionais para aplicação em bebidas e alimentos, incluindo dulçor, intensificadora de sabor, agente umectante, promotora de cor e sabor, redutora do ponto de congelamento e reguladora da estabilidade osmótica. É largamente aplicada em bebidas carbonatadas, produtos panificados, geléias, frutas enlatadas e produtos lácteos (MAYES, 1993). A frutose tem sua importância destacada devido sua eficiência na saciedade, aplicação em alimentos para diabéticos insulino-dependentes, alimento em dietas parenterais e como suplemento para resistência de atletas. Estudos mostram que altas concentrações de frutose podem promover mudanças no metabolismo,

como hiperlipidemia, hiperuricemia, lactacidemia e distúrbios no metabolismo do cobre. Além destes problemas causados pelo consumo em excesso, outros estudos sugerem a frutose como promotora de obesidade, entretanto poucos trabalhos avaliam a forma mais consumida de frutose, que é através de HFS (*High Fructose Syrup*).

3.3.4 Açúcar invertido

A partir da hidrólise da sacarose pode ser obtida uma mistura de frutose e glucose, ainda com presença de sacarose, denominada açúcar invertido, que apresenta aplicação em vários processos industriais. Exibe maior valor agregado que a sacarose pura, aumentando assim a viabilidade econômica do processo produtivo (GLAZER; NIKAIDO, 1995).

O açúcar invertido, naturalmente presente no mel apresenta 38% de frutose, 31% de glucose, 1 % de sacarose além de 17 % de água e 9 % de outros açúcares. A glucose e a frutose são os únicos monossacarídeos presentes no mel e são eles que combinados de várias formas conferem as frações de di e trissacarídeos ao mel. Pode ocorrer a precipitação da glucose por granulação térmica, um fenômeno indesejável do ponto de vista tecnológico, seguido geralmente por um processo de fermentação. Índices da proporção glucose/água são usados para prever a tendência à granulação. Pequenas quantidades de hidroximetilfurfural (HMF) ocorrem naturalmente no mel, resultando da desidratação ácida catalisada de hexoses, principalmente frutose. Elevados níveis de HMF indicam adulterações no mel com xarope de açúcar invertido por acidificação, porém várias técnicas de detecção são utilizadas atualmente (DONER, 2006).

A utilização do açúcar invertido se deve ao fato deste ser um açúcar natural que apresenta capacidade adoçante cerca de 70 % superior à da sacarose, de apresentar propriedades antioxidantes, de ser mais resistente a contaminações microbiológicas, além de

poder ser estocado em elevada concentração (80 %) sem o risco de cristalizar e de apresentar crescimento de bolores e leveduras, em comparação à sacarose pura. Essas propriedades contribuem para aumentar seu uso em vários produtos alimentícios (BAJIPAI; MARGARITIS, 1995).

O xarope comercial tem composição em torno de 25 % de sacarose e 50 % de açúcares redutores e encontra inúmeras aplicações nas indústrias de refrigerantes, alimentos e farmacêuticas, devido suas vantagens acima citadas (COOPERSUCAR, 2001).

A produção de xarope de açúcar invertido pode ser efetuada através de hidrólise ácida da sacarose. A acidez gerada na hidrólise ácida pode ser devido à ação direta de um ácido (hidrólise homogênea) ou através da liberação de H^+ da resina catiônica (hidrólise heterogênea). O meio ácido promovido pela resina catiônica pode causar perda de açúcar por degradação, levando à formação de hidroximetil furfural (HMF) com conseqüente desenvolvimento de cor no xarope. Isso pode ser minimizado se o tempo de residência do xarope na coluna e a temperatura do processo se mantiverem baixos. A hidrólise homogênea apresenta pouca eficiência de conversão e alto consumo de energia, tornando assim os custos de produção elevados, além de conduzir a um produto de qualidade diferenciada, devido à falta de controle durante o processo de inversão, o qual aplica condições drásticas de pH e temperatura (BLANCHARD; GEIGER, 1984).

A produção de xarope de açúcar invertido por hidrólise enzimática da sacarose, por não gerar resíduos ácidos e subprodutos tóxicos, e por não precisar de neutralização, é considerada uma tecnologia limpa (UENG et al., 1982). Além disso, a hidrólise enzimática catalisada pela invertase conduz a um alto grau de hidrólise, dando origem a um produto de alta qualidade com baixo teor de cinzas, cor e HMF (RODRIGUES et al., 2000). O fator limitante para a utilização da hidrólise enzimática em escala industrial é o elevado custo operacional associado ao baixo rendimento obtido nos processos de extração e purificação

desta enzima. O produto obtido a partir da hidrólise da sacarose apresenta 51 % de glucose, 42 % de D-frutose e 7 % de oligossacarídeos (RIBEIRO, 1997).

Xaropes de açúcar invertido apresentam alta afinidade por água, sendo aplicados em produtos confeitados, bolos, biscoitos moles e pães com a finalidade de reter umidade, aumentando seu tempo de prateleira (*shelf life*). Podem ser usados no lugar de glicerol, como umectante em bolos, melhorando também outras características do produto, como doçura adicional, intensificação de sabor em produtos de frutas e maior desenvolvimento de cor e sabor durante o processamento (BRITISH SUGAR COMPANY, 2007). Devido à baixa viscosidade, xaropes de açúcar invertido com elevada concentração são usados em: cereais em barra como ligas, coberturas para promover plasticidade, *fondants* para reduzir a viscosidade. Devido seu poder umectante são utilizados em aplicações não alimentícias, como na indústria de papel e de tabaco (BRITISH SUGAR COMPANY, 2007).

O produto, composto por frutose, glucose e sacarose, quando aquecido na presença de outros alimentos, provoca aumento das reações de Maillard, conduzindo a aumento no escurecimento e ressaltando o sabor. Este é um benefício para alimentos nos quais estas reações são desejáveis como parte do processo, como em: caramelos, doce de leite, balas moles (BRITISH SUGAR COMPANY, 2007).

Uma comparação entre as fontes de açúcar, na forma de adoçantes naturais e não naturais é interessante, visto que seus mercados competem entre si. A situação do açúcar no mundo apresenta a cana-de-açúcar como sendo mais produtiva que a beterraba (que é subsidiada). Os adoçantes sintéticos não são entendidos como ameaças pelos produtores, já que existem produtos com alto poder edulcorante com base em açúcar, além de serem produtos pouco difundidos entre os consumidores. O grande concorrente do açúcar no mercado internacional é a frutose de milho, um açúcar natural, altamente dependente de medidas protecionistas americanas e européias. A produção deste tipo de açúcar aumenta com

destino para usos mais tradicionais, por ser uma *comoditty*, ou seja, um produto primário, comercializado na bolsa de valores, em grandes volumes (WAACK; NEVES, 1998). O uso de adoçantes naturais em substituição à sacarose tem aumentado e o mercado ainda está propício, com poucas opções aos consumidores. Os adoçantes, assim como o açúcar comum, podem ser obtidos de várias fontes como: milho, cana-de-açúcar, beterraba e outras. São muito utilizados em bebidas, biscoitos, sorvetes e confeitos. Estudos e pesquisa têm sido realizados a fim de encontrar diversas fontes de obtenção deste açúcar, como o uso de uvas para obtenção de xarope de açúcar invertido (ROMANÍ et al., 1986). Segundo Sáenz et al. (1998), a fruta do cacto, usada atualmente em pesquisas para obtenção de sucos, marmeladas e outros alimentos processados, pode ser uma promissora fonte de açúcar invertido por apresentar, em estudos preliminares, composição semelhante a dos produtos comerciais. Neste contexto o bagaço de maçã, um subproduto com problemas ambientais devido seu valor nutricional e umidade, pode ser uma promissora fonte de açúcar invertido, uma vez que contém cerca de 30-40 % em sua composição.

3.3.5 Edulcorantes naturais

Foram lançados no mercado produtos substitutos do açúcar comum, proveniente da cana e da beterraba, os adoçantes dietéticos que merecem destaque por terem exigido grande desenvolvimento tecnológico e se constituírem num produto para uso de populações alvo, como os portadores de diabetes, obesos e pessoa que necessitam de alimentos menos calóricos. O mercado dos adoçantes dietéticos tem sido marcado por evolução no consumo, além da concorrência de novos produtos. Dentre os edulcorantes sintéticos, além de ciclamato e sacarina, o aspartame é obtido da combinação de dois aminoácidos e apresenta baixo valor calórico. Exibe alguns problemas tecnológicos, mas suas características sensoriais, e a

garantia de qualidade toxicológica determinada pelo FDA (Food and Drug Administration), fundamentam sua utilização (CARDELLO; DA SILVA; DAMÁSIO, 2000).

Os consumidores estão se tornando mais exigentes em relação à formulação dos produtos, à inocuidade dos edulcorantes artificiais além de procurar por produtos orgânicos e naturais. Neste contexto a indústria ainda não conseguiu preencher satisfatoriamente o mercado. Somente alguns adoçantes dietéticos formulados exclusivamente com edulcorantes naturais são comercializados, e a preços incompatíveis com o poder de compra da população em geral.

a. Palatinose

Prática de exercícios físicos e utilização de produtos saudáveis são as novas regras ditadas pela busca por saúde. Há poucos anos as bebidas esportivas eram disponibilizadas de duas formas: aquelas promotoras de energia rápida, porém que elevavam muito os níveis de glucose no sangue; e aquelas com baixo índice glicêmico, porém que não forneciam energia. Para solucionar este impasse foi lançada a palatinose. É liberada ao organismo de uma maneira controlada para melhor aproveitamento de energia, além de promover tanto energia suficiente quanto os benefícios do baixo índice glicêmico. A palatinose é na verdade um dissacarídeo, uma isomaltulose originalmente produzida na região de Palatinato, na Alemanha. Por rearranjo enzimático das ligações α -1-2, entre glucose e frutose na sacarose, as ligações são convertidas em α -1-6, o que transforma a sacarose em palatinose. É um pó branco, cristalino, puro, derivado da beterraba (mas também encontrada no mel e no melaço de cana), com uma doçura natural, correspondente a 50-60% da doçura do açúcar comum. Não apresenta sabor residual, pode mascarar o sabor de outros ingredientes funcionais, principalmente o amargo e apresenta boas características sensoriais. Além de todas estas

vantagens, ainda figura como o único açúcar de baixo índice glicêmico, liberado na forma de glucose, que proporciona energia prolongada (FRUIT PROCESSING, 2007).

Estudos mostraram que após consumo de sacarose os níveis de glucose, que fornece energia para o corpo, são reduzidos ao nível normal ou abaixo dele dentro sessenta minutos. Com a palatinose, os níveis de glucose são reduzidos após duas horas ou mais da ingestão (FRUIT PROCESSING, 2007).

Apresenta propriedades interessantes para uso em bebidas como estabilidade em meio ácido e não é higroscópico. Assim, em bebidas instantâneas não forma grumos e permanece solúvel e dispersa. Estocada seca a temperaturas moderadas, apresenta o mesmo *shelf life* da sacarose e em solução, *shelf life* similar ou maior que açúcares ou glucose (FRUIT PROCESSING, 2007).

A palatinose pode ser empregada tanto em bebidas para atletas quanto em alimentos, como barras de cereais, cereais matinais, alimentos para emagrecimento, controle de peso, entre outros. Isto se deve ao fato de que os açúcares convencionais vêm sendo estudados a respeito da sua influencia na estocagem de gorduras e na promoção da obesidade. Já por apresentar baixo índice glicêmico, a palatinose está relacionada à capacidade de promover oxidação das gorduras, prevenir diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares, aumentar a saciedade e com isso, ajudar no controle de peso. Pode evitar picos e quedas bruscas nos níveis de açúcar e de insulina no sangue (FRUIT PROCESSING, 2007).

A palatinose já é regulamentada como um novo alimento na EU desde julho de 2005. Nos EUA já foi assegurada como GRAS (Generally Recognized as Safe) e já é vendida como alimento em diferentes países asiáticos há muitos anos (FRUIT PROCESSING, 2007).

b. Neotame

Sob forma de pó branco cristalino, o neotame é estável ao aquecimento, solúvel em água, apresenta poder edulcorante 8000-13000 vezes maior que o da sacarose, sendo assim utilizado em quantidade pequena. Pode ser usado tanto como adoçante de mesa como em preparos culinários. Apresenta moderada estabilidade ao calor e é considerado não perigoso aos fenilcetonúricos, uma vez que a fenilalanina não é metabolizada, sendo completamente eliminado pelo organismo. Após passar por uma hidrólise, libera metanol, porém por ser utilizado apenas traços de neotame a quantidade é muito baixa, muito menor até que aquela encontrada em alimentos como frutas e sucos (CALVO, 1991).

É um peptídeo de sabor doce. Testado em vários estágios da vida humana, desde embriões a adultos, bem como seu potencial carcinogênico sendo aprovado pelo Comitê Misto de Especialistas em Aditivos Alimentares (JECFA), na Austrália, Nova Zelândia e Estados Unidos (ANZFA, 2001). Como o aspartame, é formado pela união de dois aminoácidos (fenilalanina e ácido aspártico), sendo diferenciado por ter o grupo amino do ácido aspártico ligado a um grupo 3,3 dimetilbutila (CALVO, 1991).

c. Alitame

Um dipeptídeo contendo ácido aspártico, que não apresenta sabor residual, porém instável ao aquecimento em condições ácidas, semelhante ao aspartame e poder edulcorante de 2000 vezes maior que a sacarose e 10 vezes maior que o aspartame. Diferentemente do aspartame não contém fenilalanina, podendo assim ser utilizado por fenilcetonúricos. Países

como México, Austrália, Nova Zelândia, China e EUA permitem seu uso em alimentos (CALVO M, 1991).

d. Taumatina

Extraída de uma fruta originária do Oeste Africano, a Katemfe ou “fruta milagrosa” (*Thaumatococcus daniellii*), a taumatina consiste num adoçante 100% natural conhecido na indústria pela sigla E-957. Sua estrutura o enquadra no grupo de proteínas, com caráter básico e carência em histidina, porém com elevado número de pontes dissulfeto, que conferem maior termoestabilidade. Com uma seqüência normal de aminoácidos pode ser metabolizada totalmente por humanos e animais. Apresenta dulçor de 2500 vezes maior que a sacarose, além de mascarar o sabor amargo de outras substâncias. Para preservar as características naturais, seu processo de extração exige elevada tecnologia, além de ser conhecida como uma das substâncias mais doces já encontradas (CALVO, 1991).

Muitos estudos foram realizados para comprovar sua inocuidade, sendo aprovada como GRAS (Generally Recognized as Safe) e permitida nos EUA, UE, Japão Canadá e muitos outros países. Apresenta aplicação em medicamentos, chicletes, além de ser agente aromatizante e usada como palatabilizante, para estimular o consumo de alimento (ração), principalmente para suínos (CALVO, 1991). Sem restrições de uso, até mesmo para diabéticos e fenilcetunúricos apresenta vantagens em relação aos demais edulcorantes (CALVO, 1991).

e. Neoesperidina

Uma dihidrochalcona (NHDC) obtida pela modificação química de uma substância presente em laranjas amargas, *Citrus aurantium*. Apresenta sabor residual, porém poder edulcorante de 250-1800 vezes maior que a sacarose, com degradação parcial exercida pela acidez da flora intestinal. conhecida pela sigla E-959 na indústria, encontra-se em produtos de origem européia (CALVO, 1991).

f. Esteviosídeo

Suas folhas são utilizadas como adoçante há muito tempo, mas a descrição da planta foi realizada somente em 1887. Consiste num glucosídeo encontrado na planta *Stevia rebaudiana*, com esta fração representando até 13% em peso seco da planta, com dulçor 250-300 maior que da sacarose na sua forma pura. Apesar de alguns problemas de ordem mercadológica como o forte sabor amargo residual apresenta utilização difundida. (MIOTTO; MACHADO, 2004). Tanto a planta quanto a substância pura são usadas em muitos países como Japão, China, Brasil (CALVO, 1991).

g. Monelina

Uma substância protéica formada por cadeias polipeptídicas, uma de 45 aminoácidos em β -folha pregueada e outra de 50 aminoácidos em α -hélice encontrada no fruto da *Dioscoreophyllum cumminsii*, apresenta doçura 1000 vezes maior que a sacarose (CALVO, 1991).

h. Miraculina

Glicoproteína de uma única cadeia polipeptídica de massa molar de 28000 Da encontrada na *Synsepalum dulcificum*, planta pertencente à família das Sapotáceas, originária da África Ocidental. Por si não apresenta sabor doce, porém modifica os sabores ao serem percebidos pelas papilas gustativas, transformando o sabor ácido em doce. Este efeito pode ser prolongado por aproximadamente 30 minutos. (CALVO, 1991).

Os adoçantes, definidos de maneira geral como produtos formulados para conferir sabor doce a alimentos e bebidas, apresentam os edulcorantes, tanto naturais quanto artificiais, como constituintes principais, no caso dos adoçantes do tipo “Dietéticos”. Além dos edulcorantes, apresentam ainda veículos (água, álcool etílico, amido, dextrinas, maltodextrinas, polidextrose) que facilitam o uso por conferir volume e promover diluições necessárias (TOZETTO, 2005).

3.4 PROCESSOS

3.4.1 Secagem

A secagem tem como matéria-prima um corpo sólido ou líquido, mas o produto final é sólido (com excessão da secagem de óleos) e tem por objetivo eliminar parcial ou totalmente a água presente em um corpo úmido por meio da evaporação desta (VIEIRA, 2006). Com objetivos variados como preservação dos produtos, redução de peso e volume, aumento do prazo de armazenamento, apresenta aplicações em inúmeros segmentos industriais como na preparação de pós, sólidos granulares, alimentos, produtos químicos e farmacêuticos (COOK; DUMONT, 1991).

Dois processos ocorrem simultaneamente quando um sólido úmido é submetido a uma secagem térmica (MUJUMDAR; MENON, 1995): transferência de calor do ambiente para evaporar a umidade na superfície do corpo e transferência da umidade presente no interior para a superfície do sólido e sua subsequente evaporação devido ao processo de transferência de calor. Na transferência de calor a remoção da água sob forma de vapor da superfície do sólido depende de condições externas de temperatura, umidade, fluxo de ar, área da superfície exposta e pressão. Na transferência de umidade, o movimento da umidade interna depende da natureza do sólido, da temperatura e do conteúdo de umidade.

Em resumo, ocorrem três mecanismos gerais durante a secagem:

- evaporação do líquido na superfície do sólido com pequena resistência à difusão interna de líquido se comparada à resistência para remover o vapor da superfície;
- evaporação na superfície do sólido com grande resistência à difusão interna se comparada à resistência para remover o vapor da superfície;
- evaporação no interior do sólido com resistência grande à difusão se comparada à resistência total para remover o vapor (SHERWOOD, 1929).

A escolha do secador adequado depende do tipo de produto a ser seco, das características físico-químicas do material, da escala de produção, das limitações intrínsecas ao produto, rendimento e consumo de energia. A escolha de um secador inadequado pode acarretar problemas não só durante o processo, mas ao produto final com deterioração por perda de massa e atrito excessivo, deterioração por elevação excessiva da temperatura modificando as características do produto, deterioração por oxidação indesejável do produto devido ao tempo excessivo de processo (FERLIN, 1998).

A umidade em sólidos pode se apresentar de várias formas, como umidade superficial, aquela na qual o líquido existe como um filme externo sobre o material devido a efeitos de tensão superficial. A umidade livre é a qual pode ser eliminada sob determinadas condições e

pode conter umidade ligada e não-ligada. A umidade pode estar ligada ao sólido pela retenção em capilares, em solução contida nas paredes celulares, adsorvida química e fisicamente na superfície do sólido. A umidade não ligada em um material higroscópico é a umidade em excesso do conteúdo de umidade de equilíbrio corresponde à umidade de saturação. Todo o conteúdo de umidade presente em um material não higroscópico está na forma não-ligada. A umidade livre se apresenta em estado funicular ou em estado pedular (STRUMILLO, 1986).

No estado funicular, um estado líquido contínuo existe dentro dos corpos porosos. O movimento do líquido para a superfície externa do sólido ocorre pela ação da capilaridade. Como a umidade é removida, a continuidade da fase líquida é gradualmente rompida devido à sucção de ar dentro dos poros formando pontos isolados de umidade (estado pendular). Deste modo o fluxo capilar ocorre em escala localizada. Quando o material está próximo de estar completamente seco, a umidade é retida como uma monocamada de moléculas sobre as paredes porosas, sendo principalmente removida por fluxo de vapor. No estado pendular o líquido ao redor e entre as partículas discretas é descontínuo, de forma que a umidade é separada por bolhas de ar (STRUMILLO, 1986).

A atividade de água de um sólido é expressa como a razão entre a pressão parcial de vapor de água na fase gasosa em equilíbrio com a fase sólida úmida a uma dada temperatura e pressão de vapor de água saturada à mesma temperatura (Equação 1) e é também uma função da umidade relativa do ambiente.

$$a_w = P_w / P_{\text{sat}(T)} = UR/100 \quad \text{Equação (1)}$$

Onde: a_w = atividade de água

UR = umidade relativa de vapor do produto

$P_{\text{sat}(T)}$ = pressão parcial de vapor da água pura à mesma temperatura

Neste sentido, quando a atividade de água em um sólido é alta, (próximo da umidade) a água nele contida encontra-se livre e durante a secagem a água se comporta como se estivesse pura, como o caso de vários produtos minerais muito úmidos e sem ligações —OH ou de produtos biológicos muito hidratados. Para baixos valores de atividade de água a umidade presente no sólido encontra-se ligada e a remoção desta água, no qual a pressão de vapor saturado é menor do que se ela estivesse pura, é mais fácil. A água ligada é fixa à matéria seca por ligações de diferentes tipos (ligações químicas, água fixa por capilaridade nos poros). A umidade relativa de equilíbrio pode ser representada pelas isotermas de sorção, que também representam a pressão parcial de vapor de um produto, em função do seu teor de umidade a uma dada temperatura. A relação entre o conteúdo de umidade do material e a umidade do ar é determinada experimentalmente pela permanência por um tempo suficientemente longo de contato entre o material e o ar a uma determinada umidade relativa e temperatura constante. Como o equilíbrio pode ser atingido por um processo de adsorção ou dessorção a isoterma é chamada de isoterma de adsorção ou dessorção. Quando ocorre uma irreversibilidade no processo de sorção, ou seja, um posicionamento da isoterma de dessorção diferente da de adsorção, está caracterizado o fenômeno conhecido como histerese (IUPAC, 1985).

Essencialmente a secagem do material até um conteúdo de umidade que esteja abaixo de um certo ponto A não é recomendável se o material for colocado em contato com o ar de umidade relativa igual a $U.R_A$. Se a armazenagem é necessária para um produto com um conteúdo de umidade mais baixo em tais condições, este produto deve ser colocado em um recipiente hermeticamente fechado (STRUMILLO; KUDRA, 1986).

Três regiões podem ser encontradas numa isoterma de sorção, dependendo do estado físico da água presente:

- $0 < a_w < 0,35$ – a água está altamente ligada a sítios individuais e não está disponível para reações. É a região em que as camadas monomoleculares são formadas;
- $0,35 < a_w < 0,60$ – a água encontra-se mais fracamente ligada. Esta região representa a adsorção nas camadas adicionais acima da monocamada;
- $a_w > 0,60$ – a água está presente em grandes capilares. Representa a região de condensação capilar, onde a umidade condensa nos poros do material seguida pela dissolução de componentes solúveis presentes (LABUZA, 1968).

3.4.2 Extração sólido líquido

Os componentes de uma fase sólida podem ser separados pela dissolução seletiva da parte solúvel do sólido por meio de um solvente apropriado. Esta operação é denominada de *lixiviação* ou *lavagem*. Usualmente o componente desejável é solúvel, e o restante do sólido é insolúvel. O soluto deve então ser recuperado da solução do extrato numa outra etapa de separação. Este tipo de extração, sólido-líquido, é usada industrialmente na fabricação de café solúvel, para recuperar o café solúvel da borra. Outras aplicações incluem a extração de óleo de soja com hexano como solvente, a recuperação do urânio de minérios de baixo teor pela extração com soluções de ácido sulfúrico ou de carbonato de sódio. Em virtude de uma fase ser sólida e não fluir, é necessário usar equipamentos especiais para tal extração (FOUST et al., 1982).

Durante a extração o tempo de contato deve ser suficiente para que o solvente dissolva o soluto e para que as mudanças na composição alcancem um equilíbrio. O tempo requerido depende da solubilidade de um dado soluto no solvente selecionado, da temperatura de extração, uma vez que temperaturas mais altas aumentam tanto a taxa na qual o soluto se

dissolve no solvente como a taxa de difusão no seu volume. A temperatura da maior parte das operações de extração é limitada a menos de 100°C por razões econômicas, pela extração de componentes indesejáveis em temperaturas mais altas ou por danos aos demais constituintes. A taxa de transferência de massa é diretamente proporcional à área superficial. Assim, reduções no tamanho da partícula (provocando um aumento na área superficial) aumentam a taxa de extração, até certos limites. A viscosidade do solvente deve ser baixa para permitir que penetre facilmente no leito de partículas sólidas. A taxa de fluxo do solvente, quando alta reduz a camada limite de soluto concentrado na superfície das partículas, aumentando a taxa de extração (FELLOWS, 2006).

Os tipos de solventes usados comercialmente para extrair componentes dos alimentos são mostrados na Tabela 1. A extração com água (lixiviação) apresenta vantagens em relação ao custo baixo e à segurança, sendo usada para extrair açúcar, café e chá. Óleos e gorduras requerem um solvente orgânico, e estes são altamente inflamáveis, sendo necessário muito cuidado tanto nos procedimentos operacionais quanto na garantia de que os equipamentos sejam herméticos em relação a gases e que a parte elétrica seja à prova de faísca (FELLOWS, 2006).

O dióxido de carbono supercrítico é aplicado na remoção de cafeína do café e do chá e na produção de extrato de lúpulo para cervejarias (GARDNER, 1982). Também é usado para extrair e concentrar componentes aromáticos de frutas e especiarias (pimenta, manjerona, noz-moscada, cravo-da-índia, cardamomo e gengibre) e óleos especiais de frutas cítricas, além de uma variedade de nozes e sementes (FELLOWS, 2006).

Tabela 1 - Solventes usados para extração de componentes dos alimentos

Alimento	Solvente	Concentração final do soluto (%)	Temperatura (°C)
Café descafeinado	Dióxido de carbono supercrítico, água ou cloreto de metileno	N/A	30 – 50 (CO ₂)
Fígado de peixe, subprodutos cárneos	Acetona ou éter etílico	N/A	30 – 50
Extrato de lúpulo	Dióxido de carbono supercrítico	N/A	<100 – 180
Café instantâneo	Água	25 – 30	70 – 90
Chá instantâneo	Água	2,5 – 5	N/A
Azeite de oliva	Dissulfito de carbono	N/A	
Óleos de sementes, feijões e de nozes (soja, amendoim, algodão, etc.).	Hexano, heptano ou ciclohexano	N/A	63 – 70 (hexano) 90 – 99 (heptano) 71 – 85 (ciclohexano)
Açúcar de beterraba	Água	Aprox. 15	55 - 85

*N/A – não aplicável/não disponível

*Adaptada de dados de Brennan et al., (1990); Clarke, (1990).

O termo supercrítico surgiu das linhas de temperatura e pressão críticas do diagrama de temperatura-pressão (Figura 2). A região supercrítica do dióxido de carbono encontra-se acima da temperatura de 31°C e a pressão de 73,8 Bar. Como um solvente, ele age da mesma forma que um líquido, mas possui uma baixa viscosidade e pode se difundir com facilidade como um gás. Apresenta as vantagens de ser altamente volátil e assim, facilmente separado do soluto sem deixar qualquer resíduo no alimento. Além de ser não inflamável, atóxico, bacteriostático e de baixo custo. É usado sob condições próximas ao ponto crítico (fluido quase crítico) em aplicações de desodorização ou em solutos altamente solúveis. Para extrações mais completas ou para aplicações que envolvem solutos menos solúveis, ele é usado em temperaturas e pressões mais altas (RIZVI et al., 1986). O limite superior para a

temperatura de operação é a sensibilidade térmica dos componentes do alimento, e para a pressão (em torno de 40 MPa) é o custo do equipamento de pressurização (FELLOWS, 2006).

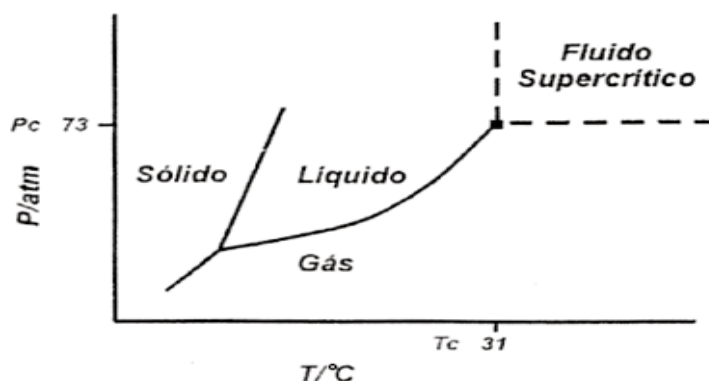


Figura 2 – Diagrama representativo do ponto supercrítico do CO₂, em 31°C e 73 atm

FONTE: www.scielo.br/img/fbpc/qn/v24n4/a12fig01.gif.

3.4.3 Evaporação

A evaporação ou concentração por ebulição é a remoção parcial de água de alimentos líquidos por meio de fervura e liberação de vapor d'água. Isso aumenta o índice de sólidos de um alimento preservando-o por meio da redução da atividade de água. A evaporação é utilizada para pré-concentrar alimentos (sucos de frutas, café e leite) antes da secagem, congelamento ou esterilização e assim reduzir seu peso e volume (FELLOWS, 2006). A concentração pode prosseguir até que a solução fique saturada e ainda mais além, até que o soluto precipita sob a forma de um sólido cristalino. Neste caso a operação é denominada de *cristalização*. O primeiro fenômeno que ocorre é a transferência de calor do meio calefator para a solução. A transferência ocorre, usualmente, através de uma superfície sólida, mas pode ser uma transferência direta entre gases de combustão e a solução evaporante. Em seguida ocorre transferência simultânea de calor e de massa do líquido para a fase vapor (FOUST et al., 1982). Isso economiza energia nas operações subseqüentes e reduz os custos

de armazenamento transporte e distribuição. Dessa forma, também acrescenta conveniência para o consumidor (bebidas de frutas para diluição, sopas concentradas, pastas de tomate, açúcar) ou para o fabricante (pectina líquida, concentrados de frutas para sorvetes ou produtos panificados). Alterações na qualidade do alimento que resultam do tratamento de calor, relativamente severo, são minimizadas pelo projeto e pela operação do equipamento. A evaporação tem um maior consumo de energia que outros métodos de concentração (membrana, congelamento), entretanto um maior grau de concentração pode ser obtido, como mostrado na Tabela 2 (FELLOWS, 2006).

Tabela 2 – Comparação da eficiência energética de diferentes técnicas de evaporação

Operações	Equivalência de vapor (custo por Kg de água removido dividido pelo custo equivalente de vapor)	Máxima concentração possível (%)
Ultrafiltração	0,001	28
Osmose reversa	0,028	30
Concentração por congelamento	0,090 – 0,386	40
Evaporação de triplo efeito sem recuperação de aroma	0,370	80
Evaporação de triplo efeito com recuperação de aroma	0,510	80

FONTE: De Thijssen, (1974).

Durante a evaporação ocorre a transferência de calor sensível do vapor para o alimento para elevar a temperatura deste até seu ponto de ebulição. O calor latente de vaporização é, então, fornecido pelo vapor para formar bolhas de vapor que deixam a superfície do líquido em ebulição. A taxa de evaporação é determinada tanto pela taxa de transferência de calor no interior do alimento quanto pela taxa de transferência de massa de vapor do alimento. A quantidade de calor cedida pelo vapor condensante é igual à quantidade de calor usada para elevar a temperatura da alimentação até o ponto de ebulição e então evaporar a água do alimento. Para a maioria dos processos de evaporação a taxa de transferência de calor é o fator

limitante, e a taxa de transferência de massa torna-se importante somente quando o produto está totalmente concentrado (FELLOWS, 2006).

Existem vários fatores que influenciam a taxa de transferência de calor, determinando assim o tempo de processo e a qualidade dos produtos concentrados, como a diferença de temperatura entre o vapor d'água e o líquido em ebulição, que pode ser elevada com aumento de pressão e temperatura do vapor ou com redução da temperatura do líquido em ebulição por meio da evaporação sob vácuo parcial. Em evaporadores a vácuo comerciais, o ponto de ebulição pode ser reduzido em 40°C.

Entretanto ambos os métodos aumentam o custo de capital dos equipamentos devido à maior resistência necessária e ao maior consumo de energia para o processo. A diferença de temperatura se torna menor à medida que os alimentos se tornam mais concentrados por causa da elevação do ponto de ebulição; conseqüentemente a taxa de transferência de calor diminui ao longo do processo. Em grandes evaporadores, o ponto de ebulição do líquido na base do equipamento pode ser ligeiramente aumentado devido à maior pressão exercida pelo peso do líquido acima (pressão hidrostática). As incrustações nas superfícies do evaporador reduzem a taxa de transferência de calor. Ela depende da diferença de temperatura entre o alimento e a superfície aquecida e da viscosidade e composição química do alimento.

Pode ocorrer desnaturação de proteínas ou deposição de polissacarídeos pela queima do alimento em contato com superfícies quentes. A corrosão do metal no local por onde passa o vapor também pode diminuir a taxa de transferência de calor. A formação do filme limite, uma película de líquido estacionário nas paredes do evaporador, é geralmente a principal resistência para a transferência de calor. A espessura do filme é reduzida pela promoção de correntes de convecção no alimento ou pela indução mecânica de turbulência. A viscosidade de muitos alimentos aumenta com a concentração, o que reduz o número de Reynolds, diminuindo a taxa de transferência de calor. Além disso, alimentos mais viscosos ficam em

contato com superfícies quentes por períodos mais longos e, como resultado, sofrem maiores danos devido ao calor (FELLOWS, 2006).

3.4.4 Floculação de biomoléculas

A água tende a opor-se à atração eletrostática entre os íons positivos e negativos. Isso é dado pela constante dielétrica D , definida pela relação:

$$F = (e_1 * e_2)/(r^2 * D) \quad \text{Equação (2)}$$

onde F é a força de atração entre dois íons de cargas contrárias, e_1 e e_2 são as cargas dos íons, e r é a distância entre eles. A Tabela 3 mostra que a água tem uma constante dielétrica alta e o hexano ao contrário baixa (LEHNINGER, 1976).

Tabela 3 - Constante dielétrica D de alguns líquidos (20°C).

Líquidos	Constantes dielétricas
Água	80,0
Metanol	33,0
Etanol	24,0
Acetona	21,4
Benzeno	2,3
Hexano	1,9

FONTE: Lehninger, (1976).

A força de atração entre íons $+$ e $-$, a uma dada distância na água, é somente um quadragésimo do benzeno, um fator que favorece a dissolução da rede cristalina na água (LEHNINGER, 1976).

A adição de solventes orgânicos neutros miscíveis com a água, em especial o etanol ou acetona reduz a solubilidade da maioria das proteínas globulares, macromoléculas, em água ao ponto de precipitá-las em solução. Estudos quantitativos desse efeito mostram que a solubilidade protéica em um pH e força iônica fixados, é uma função da constante dielétrica

do meio. Uma vez que a constante dielétrica do etanol é inferior à da água, sua adição a uma solução protéica aquosa aumenta as forças de atração entre cargas opostas, reduzindo assim o grau de ionização dos grupamentos R da molécula protéica. Como resultado, as moléculas de proteína tendem a se agregar e precipitar. Misturas de proteínas podem ser separadas tendo como base as diferenças quantitativas em sua solubilidade em misturas geladas de etanol-água, ou acetona-água. Uma desvantagem desse método é que uma vez que esse solvente pode desnaturar as proteínas a temperaturas elevadas, a temperatura deve ser mantida baixa (LEHNINGER, 1976).

Este princípio também se aplica à pectina, um polímero formado por ácidos galacturônicos esterificados com grupamentos metila. A floculação desta pectina em uma solução pode ser obtida pela adição de uma solução hidroalcoólica, tendo o álcool a função de promover a agregação das partículas, removíveis em seguida por filtração. Segundo Glicksman, (1986), agentes precipitantes não orgânicos como metanol, etanol e isopropanol ou sais insolúveis, como o alumínio sob a forma de cloreto ou sulfato podem ser efetivos na precipitação da pectina. No caso da aplicação de sais de alumínio, a pectina é isolada como um co-precipitado com hidróxido de alumínio.

3.4.5 Troca Iônica

Um trocador iônico é constituído por um material poroso inerte, natural ou sintético, parcialmente insolúvel em água e em solventes orgânicos, que apresenta cargas elétricas em sua estrutura, contrabalanceadas por íons de carga oposta. Nesta técnica, a adsorção dos íons trocáveis envolve interações eletrostáticas de cargas (ALMEIDA, 2000).

As resinas trocadoras de íons podem ser classificadas como aniônica ou catiônica, dependendo do caráter básico ou ácido, respectivamente, dos grupos iônicos presentes em sua

estrutura sólida. A resina de troca aniônica apresenta grupos iônicos positivos, podendo reter e trocar ânions com solução em contato. Já a resina de troca catiônica apresenta grupos iônicos negativos, reterendo e trocando cátions com solução em contato (ALMEIDA, 2000).

As resinas também podem ser trocadoras fortes ou fracas de íons, dependendo do grau de dissociação, completo ou incompleto (ALMEIDA, 2000). A escolha da resina trocadora de íons para uma determinada aplicação deve ser baseada nas propriedades físicas e químicas do sistema (ALMEIDA, 2000).

Tabela 4 - Tipos de resinas de troca iônica e faixas de pH em que são ativas

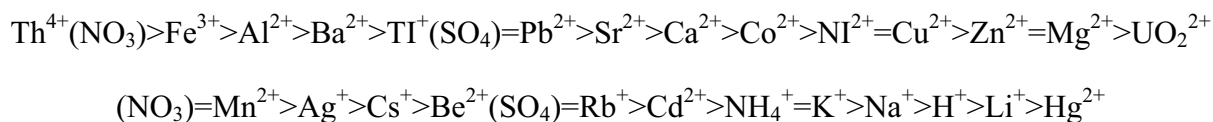
Resina	Tipo	Faixa de pH
Catiônica	Ácido fraco	5-14
	Ácido forte	0-14
Aniônica	Base fraca	0-9
	Base forte	0-14

FONTE: Dorfner, (1991).

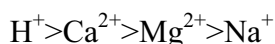
As resinas que exibem características ácidas, com hidrogênios não ligados, são catiônicas, podendo ser fortes ou fracas, dependendo apenas do seu grupo terminal. Aquelas que apresentam grupos terminais semelhantes a $-\text{SO}_3\text{H}$ ou $-\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$ conferem às resinas propriedades de ácidos fortes, enquanto as resinas que apresentam grupos terminais como $-\text{COOH}$ exibem propriedades de ácidos fracos (SKOGLEY, DOBERMANN, 1996). As resinas catiônicas podem estar saturadas com H^+ ou algum outro cátion (ALMEIDA, 2000).

A substituição ou troca de cátions adsorvidos por uma resina de troca iônica do tipo ácido forte sofrem influências de diversos fatores, principalmente ao nível molecular, como: o tamanho, o valor da carga e a concentração dos íons. Não existe uma ordem estabelecida que indique com segurança como ocorrem as trocas iônicas nas resinas, devido às inúmeras variáveis, como o tamanho das partículas, interações dos íons com os grupos terminais da resina, números de sítios da resina, entre outros. Porém estudos realizados revelaram que, em

soluções diluídas com concentração máxima de íon metálico de 0,1 mol/L e em temperatura de 25°C, a sequência abaixo é seguida (BDH Chemical, 1981):



Em soluções concentradas o efeito das cargas é invertido e a adsorção de íons univalentes é preferencial à dos multivalentes. Para resinas de ácidos fracos, seguindo as mesmas condições aplicadas para ácidos fortes, a sequência de seletividade de reações é a seguinte:



As resinas aniônicas, semelhantes às bases, podem ser classificadas como fortes, quando apresentam amônio quaternário como grupo funcional, e como fracas quando apresentam grupos amino substituídos. A basicidade da resina depende da natureza, da atividade e da posição dos grupamentos funcionais. Assim como as resinas catiônicas, as resina aniônicas não apresentam ordem definida de reações, mas em soluções diluídas com concentração máxima de íon metálico de 0,1 mol/L e em temperatura de 25°C, a sequência abaixo é seguida (BDH Chemical, 1981):



As resinas de troca iônica apresentam alta densidade de cargas e os íons presentes em solução, que possuem cargas contrárias às da resina, são seletivamente adsorvidos pela mesma, como mostrado na Figura 3.

Os íons presentes na solução podem ser eluídos quando ocorre o deslocamento de outros íons com cargas do mesmo tipo, mas que exibem maior força de interação com a resina, ou concentração mais elevada.

A estequiometria e a equivalência na troca de cargas interferem diretamente no equilíbrio químico a ser considerado.

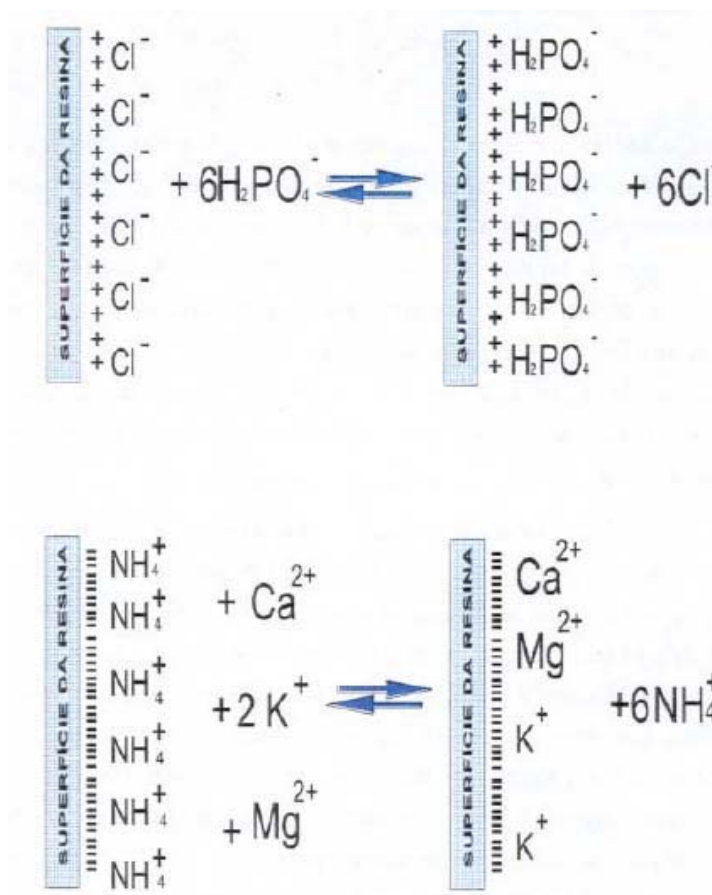


Figura 3 - Representação esquemática de troca de cargas ocorridas na superfície de resinas de troca iônica

FONTE: De Almeida, (2001).

A Cromatografia de Íons (CI) abrange várias modalidades além do clássico mecanismo de troca iônica, como: Cromatografia por Troca Iônica (CTI), Cromatografia por Par Iônico (CPI), Cromatografia por Troca Iônica Dinâmica (CTID), Cromatografia por Interação de Íons (CII), Cromatografia por Exclusão de Íons (CEI), Cromatografia por Quelação de Íons (CQI) (SARZANINI,1999; SARZANINI, 2002).

Por meio desses métodos, é possível separar uma amostra contendo ácidos carboxílicos, bases orgânicas, peptídeos, aminoácidos, ácidos nucleicos, ânions inorgânicos, cátions metálicos e complexos que apresentam carga (KAISER, 2003).

Segundo Collins et al. (2006), uma amostra iônica consiste em uma mistura contendo um ou mais compostos iônicos ou compostos orgânicos ionizados ou ionizáveis, enquanto um soluto iônico é uma molécula que contém um ou mais grupos funcionais capazes de ter comportamento de ácido ou base no intervalo de pH usual em HPLC. O intervalo de pH em HPLC, para ocorrer a separação destas espécies, é de $2 < \text{pH} < 8$ para colunas recheadas cujo suporte é sílica, e $1 < \text{pH} < 14$ para colunas recheadas com fases estáveis nessa faixa de pH.

A Cromatografia por Troca Iônica (CTI) consiste em um método tendo como base um processo dinâmico de troca iônica ocorrendo entre a fase móvel e grupos de troca iônica ligados ao material do suporte. Com as colunas de troca catiônica ou aniônica são usadas soluções diluídas de íons como eluente para separar, respectivamente, cátions ou ânions (SARZANINI, 1999).

Dabek-Zlotorzynska e Dlouhy (1993) utilizaram uma nova configuração de CTI composta por quatro Cromatógrafos de Íons (três em modo gradiente e um em isocrático), quatro membranas supressoras, quatro colunas de guarda, quatro detectores e dois computadores. Esse sistema foi aplicado para a determinação simultânea de dez ânions inorgânicos e orgânicos e dez cátions em amostras de aerossóis. A vantagem do uso desse sistema é a multiplicidade de condições que pode ser aplicada simultaneamente, mas as principais desvantagens de todos os sistemas de CTI em paralelo são o alto custo da análise e da manutenção e a baixa confiabilidade.

Uma simplificação dos sistemas que aplicam múltiplas colunas é o uso de colunas de troca catiônica e aniônica em série. Com essa configuração, é utilizado somente um eluente

em modo isocrático e um ou mais sistemas de detecção, dependendo das espécies a serem separadas e das suas concentrações na amostra.

Uma dificuldade associada com colunas em série está na alta pressão necessária para mover a fase móvel e uma célula de detecção resistente à pressão gerada. Em relação ao sistema de detecção mais adequada à separação simultânea de ânions e cátions, deve ser ajustado à necessidade do processo. Do ponto de vista de simplicidade, custo e ausência de alargamento extra de pico é preferível o uso de um detector universal. Por outro lado, uma baixa seletividade e eficiência de separação podem ser compensadas pelo uso de um segundo sistema de detecção, tais como um plasma indutivamente acoplado com detecção por espectroscopia ótica de emissão (ICP OES) ou dois eletrodos seletivos de íons em série (AULER, 2006).

Muitos estudos mencionados na literatura para a separação de açúcares aplicam resinas formadas por polímeros sulfonados, na maioria das vezes um copolímero divinilbenzeno (DVB) e estireno (VENTE et al., 2005).

Além de resinas trocadoras de íons, vários outros adsorventes têm sido estudados para a separação de frutose e glucose, como principalmente zeólitas e aluminas (HASHIMOTO et al., 1983; HO et al., 1987; CHING e RUTHVEN, 1988; SINGH e MOHAN, 2004).

As resinas trocadoras de íons têm sido muito utilizadas na indústria açucareira por ser inerte e altamente seletiva. Xaropes de glucose e frutose apresentam importância crescente e por este motivo tornaram-se *commodity* na indústria de alimentos (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2008).

3.5 ANÁLISES INSTRUMENTAIS E MULTIVARIADA

3.5.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) é baseada na medida da absorção de radiação eletromagnética na região de radiofrequência de cerca de 4 a 900 MHz. Ao contrário da absorção no ultravioleta, visível e infravermelho, núcleos dos átomos estão envolvidos no processo em vez de elétrons externos. Para que os núcleos atinjam os estados de energia é necessário colocar o analito sob um campo magnético intenso (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002). Somente alguns núcleos atômicos se comportam como dipolos magnéticos, apresentando módulo cerca de mil vezes menor do que o associado aos elétrons, pois sendo assim tão pequeno, não proporciona propriedades magnéticas aos sólidos (GIL, GERALDES, 1987). O dipolo é originado no movimento de rotação (spin nuclear) dos núcleos carregados e expresso em número quântico de spins – I , podendo este ter valor zero, semi-inteiro ou inteiro. Dentre estes núcleos carregados, somente os isótopos com número ímpar de prótons e/ou nêutrons, ou seja, com I total diferente de zero, podem apresentar RMN. O momento angular do spin é uma grandeza quantizada, vetorial, e não pode assumir qualquer módulo, direção ou sentido.

Com um momento angular p , componente angular máxima observável um múltiplo inteiro ou semi-inteiro de $h/2\pi$, (onde h é a constante de Planck) e número quântico de spins I ; o núcleo terá $2I+1$ estados discretos. O componente de momento angular desses estados em qualquer direção terá valores de $I, I-1, I-2, \dots, -I$. Na ausência de um campo externo, os vários estados têm energias idênticas. A relação entre spin nuclear e momento magnético leva a uma série de estados quânticos magnéticos observáveis m , dados por $m = I, I-1, I-2, \dots, -I$ (HOLLER, NIEMAN, SKOOG, 2002).

Os quatro núcleos que têm sido mais usados pelos químicos orgânicos e bioquímicos são: ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P . O número quântico de spins para estes núcleos é $\frac{1}{2}$. A Figura 4 ilustra vetorialmente a quantização do momento angular para o isótopo ^1H , que apresenta apenas duas possíveis direções, $m = -1/2$ e $+1/2$.

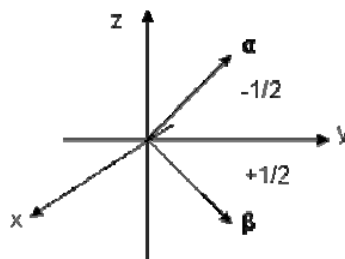


Figura 4 – Quantização vetorial do momento angular de *spin*

FONTE: Gil; Geraldles, (1987).

Enquanto os métodos cromatográficos determinam a correspondência em composto químico específico (açúcares, ácidos orgânicos, flavonóides, aminoácidos) e geralmente exigem preparo prévio da amostra, a espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) aparece na identificação e quantificação de compostos, como um método de crescente aplicação por ser uma técnica seletiva, capaz de detectar simultaneamente uma grande quantidade de compostos químicos (açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos, compostos fenólicos), além de não destrutiva, em um único espectro. Esta técnica também oferece vantagens em relação à simplicidade e rapidez no preparo das amostras. A espectroscopia de ^1H RMN associada à análise dos componentes principais (PCA) tem sido largamente aplicada na identificação da origem de vinhos (KOŠIR; KIDRIČ, 2002), na diferenciação de tipos de cervejas (DUARTE et al., 2002), na detecção de adulterantes em óleos de oliva (FAUHL et al., 1996), na determinação da qualidade de produtos da hortifruticultura (HILLS; CLARK, 2003), na determinação de sólidos solúveis em frutas (KEENER; STROSHINE; NYENHUIS, 1997; CHO; KRUTZ, 1989; STROSHINE et al., 1991; CHO et al., 1993) e no

estudo da composição dos alimentos em geral (EADS; BRYANT, 1986; BASTONI et al., 2001; KOSIR; KIDRIC, 2002), com ênfase em sucos de frutas (EADS; BRYANT, 1986; BELTON et al., 1996; BELTON et al, 1997; GIL et al., 2000). Trata-se de uma técnica muito aplicada na quantificação de amostras naturais e sintéticas.

Estudos recentes mostram a sua associação com métodos quimiométricos na caracterização e classificação de produtos de acordo com sua origem, qualidade ou variedade (FAUHL; RENIERO; GUILLOU, 2000; BRESCIA et al., 2002; CHARLTON; FARRINGTON; BRERETON, 2002; COLQUHOUN, 1998; FRAGAKI et al., 2005). Assim, análises quimiométricas já foram aplicadas na caracterização de três variedades de maçãs de pomares ingleses (BELTON et al., 1998) usando duas regiões do espectro de ^1H RMN: a região central, de 2,5 a 5,0 ppm, contendo sinais dos componentes de maior concentração, principalmente açúcares, e a região de alto campo, de 0,8 a 2,5 ppm, contendo os sinais dos compostos de baixa concentração, principalmente ácidos e aminoácidos.

3.5.2 Espectroscopia de Infravermelho médio de transformada de Fourier (FTIR)

Espectroscopia no infravermelho próximo e médio tem se tornado um método amplamente aplicado em análise quantitativa e avaliação qualitativa de frutas (LAMMERTYN et al., 2000; KAWANO, 1994; PEIRS et al., 2002; VENTURA et al., 1998). Infravermelho próximo (NIR) tem sido usado em análises de determinação da qualidade de maçãs, em relação à firmeza, conteúdo de sólidos solúveis (LU, 2004; LAMMERTYN et al, 1998; PEIRS et al, 2001) variedade (LEEMANS; DESTAIN; KLEYNEN, 2003) e detecção de hematomas (XING, 2003). O FTIR, uma ferramenta na determinação de ácidos e açúcares em suco de maçã (TEWARI; IRUDAYARAJ, 2003), pode ser usado na detecção da presença de adulterantes (IRUDAYARAJ; KORACH; SIVAKESAVA, 2001). Estudos semelhantes

foram realizados com a Reflectância Total Atenuada (ATR). Ambos os métodos apresentam a vantagem de serem técnicas analíticas capazes de medir múltiplos parâmetros ao mesmo tempo, além de se constituírem em técnicas não destrutivas que permitem a análise da mesma amostra várias vezes.

3.5.3 Análise Multivariada

A combinação ou fusão de dados, através de análise multivariada, obtidos de diferentes instrumentos é largamente utilizada, o que possibilita avaliar o conjunto de características, levando em consideração as correlações existentes e permitindo que interferências sejam feitas no conjunto, em um nível de significância conhecido (NASCIMENTO, 2007).

As técnicas mais utilizadas são a análise de componentes principais (PCA), análise hierárquica de agrupamentos (HCA), análise de fatores (FA), regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), análise discriminante (DA), análise discriminante linear (LDA), análise discriminante quadrática (QDA), análise discriminante canônica (CDA). A análise exploratória do banco de dados dos resultados analíticos, feita por PLS, PCA e LDA, visa uma avaliação inicial dos dados a fim de descobrir quais informações podem ser extraídas, sendo feita através de algoritmos que permitem diminuir a dimensão dos dados ou organizá-los em estrutura facilitada para visualização do conjunto de uma forma global (NASCIMENTO, 2007).

O PCA permite identificar, no espaço das variáveis, as direções nas quais a maior parte delas está contida. Mostra diferenças entre várias amostras ou grupos delas (gráficos de pontuação), determinando ao mesmo tempo, as variáveis principais envolvidas, através da projeção dos resultados de cada amostra no espaço formado pelas novas componentes

principais (BRUNS e FAIGLE, 1985; LAVINE, 2000; LAVINE e WORKMAN, 2006). Esta técnica pode ser usada para reduzir o número de variáveis e fornecer uma visão estatística melhorada do conjunto.

O método PLS relaciona uma ou mais variáveis respostas Y, com diversas variáveis independentes X, utilizando fatores (MILLER; MILLER, 2000). Ajusta múltiplas variáveis em um único modelo, através da redução da quantidade para um grupo de variáveis não correlacionadas e aplica a regressão por mínimos quadrados neste grupo (HOPKE, 2003). Usado em especial quando as variáveis são altamente colineares ou quando há mais variáveis do que amostras, e também quando a regressão normal produz coeficientes com desvio padrão muito elevado (RECHE, 2006).

A associação entre FTIR e PCA, por exemplo tem sido usada por pesquisadores de diversas áreas (BORIN; POPPI, 2004; COTRIM et al., 1999; MARIEY et al., 2001; FOOT; MULHOLLAND, 2005).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Matéria prima

Maças das variedades Gala, Catarina, Joaquina e Fuji, fornecidas pela Agrícola Fraiburgo (SC), safra 2007/2008.

4.1.2 Equipamentos

Os equipamentos utilizados foram: Balança Shimadzu AX 200; Espectrofotômetro FEMTO 432; Refratômetro Abbe Refractometer WY 1A; Centrífuga CELM COMBATE (Série 3548 – Tecnal); Banho termostatizado FANEM (modelo 100); Incubadora Refrigeradora com agitação MA-832; Miniagitador Magnético Q 221; Estufa Quimis Q 316.24, MiliQ.

4.1.3 Resinas

Dowex 50WX8 - fortemente catiônica, do tipo gel, na forma H^+ . Apresenta 8% de ligações intercruzadas com divinilbenzeno (DVB).

Amberlite IRA 420 - fortemente aniônica, do tipo gel, na forma Cl^- .

As resinas foram fornecidas pela Rohm and Hass (São Paulo) e a água utilizada foi MiliQ.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Processos

a. Desidratação do bagaço

A desidratação foi efetuada em estufa (Marconi MA 035) de circulação e renovação de ar aquecido, com temperatura na faixa de 50 - 100°C e precisão de 0,1°C, dotada de 6 prateleiras de aço inoxidável com perfurações de 1 cm de diâmetro e com possibilidade de introdução de sensores de temperatura (termopares - tipo K, marca MINIPA, modelo MT-40IA) na massa em processamento de secagem, em cada prateleira ou em vários locais de uma mesma prateleira. As amostras de maçãs foram selecionadas, sanitizadas e cortadas em moinho de facas (METVISA, modelo MPA, nº 5013) para a obtenção da massa ralada que foi a seguir acondicionada em sacos plásticos que, intercalados com crivos de madeira, foram prensados (Prensa Hidráulica Potente Brasil, capacidade de 15 ton) a 3 kgf/cm² durante cinco minutos, por três vezes consecutivas. O suco *premium* obtido foi processado em seguida, conforme descrito por Wosiacki et al. (1989). O bagaço residual foi retirado do saco plástico, imerso em igual peso de água (potável), e centrifugado (Centrífuga Arno NCRA 10,5 kg) a fim de eliminar parcialmente os componentes solúveis presentes nas superfícies dos fragmentos favorecendo a secagem, tendo sido monitorada a perda de peso (Balança Balmak, modelo MP-50) até estabilização da umidade de equilíbrio. O material seco foi moído (Liquidificador Metvisa TA.2) e tamizado a 60 Mesh. Para evitar problemas microbiológicos o bagaço tamizado foi usado dentro de 2 semanas após o processamento.

b. Extração dos compostos solúveis do bagaço

Trata-se de uma separação sólido: líquido na qual os compostos solúveis, como açúcares e ácidos orgânicos são extraídos da matriz por solução aquosa. O método de extração foi adaptado de Queji (2008), com modificações, utilizando 50 g de amostra homogeneizada em 700 mL de água (potável), passada duas vezes em papel de filtro, após agitação manual intermitente.

c. Flocculação da pectina

Ao filtrado, resfriado ligeiramente, foi adicionado álcool P.A em temperatura de -18°C, na proporção de 1:2 (v/v), o que corresponde a uma mistura hidroalcoólica com 66% de álcool. A mistura foi mantida em refrigeração durante 2 horas para estabilização do floculado composto de substâncias pécticas, sendo em seguida filtrada e centrifugada. A fração contendo substâncias pécticas foi removida e o filtrado contendo açúcares solúveis foi evaporado a baixa temperatura e pressão para remoção do álcool em evaporador rotativo (Tecnal TE-211).

d. Separação cromatográfica de íons

A purificação da fração contendo frutose, glucose e sacarose, agora concentrada, foi feita por percolação nas resinas de troca iônica Dowex 50WX8 e Amberlite IRA 420, contidas cada uma em colunas de 26 cm de comprimento e 2,5 cm de diâmetro interno.

Antes da passagem da amostra, as resinas contidas nas colunas foram ativadas com soluções de NaOH 0,05 N e HCl 0,05 N repetidas vezes até atingir o pH ideal de cada resina.

Para a Dowex, a última lavagem foi realizada com HCl, seguido de água até pH em torno de 4,5-5,0; e para a Amberlite, com NaOH, seguido de água até pH em torno de 6,5-7,0.

A amostra foi alimentada primeiramente na coluna contendo a resina Dowex, de forma descendente. Para auxiliar a percolação uma bomba peristáltica foi conectada no ducto de saída da coluna. Após a passagem de toda amostra pela primeira coluna, o mesmo procedimento foi realizado com a segunda, contendo Amberlite IRA 420.

e. Evaporação a vácuo

A solução purificada de sacarose, glucose e frutose foi concentrada sob vácuo, em temperatura de 48° C, até aproximadamente 70° Brix, em evaporador rotativo.

4.2.2 Análises

a. Análises por Via Úmida

Açúcares redutores totais (ART)

Os açúcares redutores totais, glucose e frutose, livres e provenientes da hidrólise da amostra são quantificados por método químico colorimétrico após uma hidrólise branda da sacarose e reação com o reativo fosfomolibdico em meio alcalino. A leitura de absorbância feita em espectrofotômetro a 520 nm é proporcional à quantidade de açúcar redutor, descrito por Somogyi (1952).

Açúcares redutores (AR)

Os açúcares redutores, glucose e frutose livres, presentes na amostra são quantificados por método químico colorimétrico pela reação com o reativo fosfomolibdico em meio alcalino. Método químico colorimétrico que identifica somente açúcares redutores presentes na amostra, por leitura de absorbância em espectrofotômetro a 520 nm - Somogyi modificada por Nelson, descrito por Somogyi (1952).

Glucose e frutose e sacarose

A glucose foi primeiramente determinada pelo mecanismo da hexoquinase/glucose-6-fosfato desidrogenase. Após, a frutose foi determinada na mesma amostra pelo mecanismo da hexoquinase/fosfoglucoisomerase/glucose-6-fosfatodesidrogenase. A sacarose foi determinada, após a hidrólise, pelo mecanismo da invertase β -frutosidase, através da diferença entre a concentração de glucose antes e após a inversão (BOEHRINGER, 2000). A absorbância foi medida em um espectrofotômetro, em *UV-vis*, à 340nm - Kit enzimático (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

Glucose Oxidase

Determinação do teor de glucose na amostra por análise química colorimétrica, com utilização de padrão de glucose (50 μ g) e leitura por absorbância em espectrofotômetro a 520 nm - Método enzimático colorimétrico – *Gold Analisa Diagnóstica*, cat. 134e, Glucose-pp.

Teor de Umidade

Determinado por perda termogravimétrica a 110°C - Método segundo Adolfo Lutz (2005).

Aparência do bagaço

Documentada com fotografia obtida com câmera Sony Shot H-7 8,5 Mpixel e analisada pelas ferramentas do software COREL12[®], segundo o sistema CIEL, a, b, no qual o parâmetro L representa a transição escuro-claro qualificando amostras como claras com $L > 50$, os parâmetros a e b, variam de 0 a 255 e representam a transição de verde para vermelho e azul para amarelo, respectivamente com amostras com tendência para coloração avermelhada e amarelada, com a e $b > 127$ (CAMELO, GÓMEZ, 2004). Para a análise dos resultados obtidos com os parâmetros colorimétricos do experimento foram utilizados os métodos multivariados de Análises de Componentes Principais (PCA) e Análise de Agrupamentos Hierárquicos (HCA) utilizando o programa Pirouette, versão 4.1 (Infometrix). Tanto para PCA quanto para HCA os dados foram autoescalados. Nas análises de HCA as amostras foram agrupadas pelo método de conexão incremental com distância euclidiana para a análise exploratória (BEEBE; PELL; SEASHOLTZ, 1998).

Coliformes Totais

Determinação da presença de agentes contaminantes na amostra por incubação em diferentes meios, propícios ao crescimento específico de coliformes - Método segundo Franco (1996).

O método para a determinação do Número Mais Provável é adotado pela *American Public Health Association*, e está descrito no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 1992). Inicialmente foram inoculados três tubos, nas diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , todos em triplicata, totalizando 9 tubos. Em cada tubo foram adicionados 6mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) com tubos de Durhan. O material permaneceu em estufa a 35° C durante 24 horas, não se observando turvação e produção de gás. Após 48 horas, turvação e produção de gás não foram observados, assim não necessitando a transferência para os tubos contendo Caldo Verde Brilhante Bile (VB) nem para o Caldo *Escherichia coli* (EC).

b. Análises Instrumentais

Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC)

As análises por cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC) foram realizadas em um cromatógrafo Shimadzu equipado com: unidade de controle CBM-10A, forno CTO-10A, bomba LC-10AD e detector de índice de refração RID-10A. Foi utilizada uma coluna Supelcogel Ca (Supelco- USA), 30 cm x 7,8 mm e pré-coluna Supelcogel Ca, 5 cm x 4,6 mm. A temperatura de análise foi de 80°C, fluxo de 0,5 mL/min utilizando água como eluente. Para a quantificação absoluta dos açúcares na amostra foram construídas curvas de calibração dos padrões glucose, frutose e sacarose.

Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros foram obtidos em um espectrômetro em alta resolução, da marca Bruker, modelo Ultra Shield TM com ímã de 9,4 T, equivalente às frequências de 400 MHz para ^1H e 100 MHz para o ^{13}C .

As análises foram realizadas em uma bobina de 5,00 mm com pulso de 90° , larguras de 7,50 μs , com tempo de aquisição de 7,50 s, 16 scans, com número de pontos de aquisição de 64 K e janela espectral de 10 ppm. Para a análise *in vitro*, o adoçante de maçã foi dissolvido em D_2O (600 μL), contendo o DMSO- d_6 (dimetilsulfóxido) (60 μL) como padrão interno e tetrametilsilano (TMS) (0,03mg) como referência.

Os dados foram processados no programa MestRe-C sendo ajustadas as fases e a linhas de base. Os deslocamentos químicos dos espectros foram feitos segundo o pico referência do TMS.

Em balão de 10 mL foi preparada uma solução base para a diluição tanto dos padrões quanto das amostras com a adição de 60 μL de DMSO- d_6 (padrão interno) e 0,03mg de TMS no balão e completando-se com D_2O .

Para a obtenção dos espectros das amostras foram utilizados 304 10^{-3} mg do adoçante da variedade Joaquina, 307 10^{-3} mg da Catarina, 304 10^{-3} mg da Fuji e 297 10^{-3} mg da Gala e para os açúcares padrões (sacarose, glucose e frutose) utilizaram-se na construção de curvas cinco concentrações de cada (3×10^{-2} ; 275×10^{-3} ; 25×10^{-2} ; 20×10^{-2} e 175×10^{-3} mg). Para a obtenção de cada espectro foram dissolvidos tanto as amostras quanto os padrões em 600 μL da solução prévia e em seguida adicionados no tubo para a análise.

Espectroscopia de Infra Vermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de Infra Vermelho foram obtidos em um espectrômetro Nicolet, modelo Spectrum 4700. Para a quantificação de açúcares foi utilizado uma resolução de 2 cm^{-1} , na região de $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$. Para cada espectro, foram realizadas 32 varreduras.

Foram feitas pastilhas, utilizando KBr como base inerte. Para as pastilhas dos adoçantes foi utilizado 40mg de sal e 0,03mg de amostra, para cada variedade. As pastilhas dos padrões, glucose, frutose e sacarose foram feitas na proporção de 2,50 ; 2,00 ; 1,50 e 1,00% de açúcar padrão/KBr. Estes quatro espectros obtidos para cada padrão foram utilizados para a construção de curvas de calibração.

c. Análises Multivariadas

Regressão por Mínimos Quadrados Parciais – (PLS)

Todos os modelos de regressão foram desenvolvidos utilizando o aplicativo Pirouette (Infometrix) versão 4.0, sendo baseados no método dos mínimos quadrados parciais (PLS). A validação cruzada foi usada para fazer a calibração e em seguida para avaliar a previsibilidade dos dados. Nesta, foi removido uma amostra do conjunto de dados, foi feito o modelo de calibração e usado a amostra excluída para validá-lo, sendo repetido este procedimento para todas as amostras. O pré processamento foi o centrado na média, o qual é mais indicado para tais dados, que constituem um conjunto homogêneo.

Cada matriz obtida foi analisada e as regiões que não apresentaram importância (significância) aos resultados foram excluídas, sendo estas específicas de cada correlação.

Análise de Componentes Principais – PCA

A técnica de análise de componentes principais (PCA) foi utilizada correlacionando cinco concentrações (30; 27,50; 25; 20 e 17,50mg) de cada um dos três açúcares padrões com a quantificação obtida por integração dos picos, em RMN, com o intuito de avaliar a similaridade entre as variedades e a influência exercida por cada açúcar padrão. As análises foram desenvolvidas no programa Pirouette (InfoMetrix) versão 4.0, utilizando o pré-processamento auto-escalado no tratamento dos dados em função das diferentes ordens de grandeza das variáveis estudadas, atribuindo-se assim um mesmo peso para todas as variáveis.

Análise Hierárquica de Agrupamentos – HCA

A análise hierárquica de agrupamentos (HCA) foi aplicada aos mesmos dados utilizados em PCA e desenvolvida no programa Pirouette (InfoMetrix) versão 4.0, com a distância Euclidiana e o método de conexão incremental.

d. Análise estatística simples

Os resultados dos procedimentos experimentais em que são utilizados delineamentos de blocos em acaso foram analisados estatisticamente pela ANOVA, com 95 % de confiança, e havendo diferenças, foram quantificadas pelo teste diferencial de TUKEY a 5 % de probabilidade.

e. Análise Sensorial

Para a continuidade do trabalho optou-se, após obtenção dos resultados de quantificação dos açúcares nos adoçantes, por utilizar na análise sensorial o adoçante obtido apenas da variedade Gala.

A Análise Sensorial Descritiva Quantitativa (ADQ) e Sensorial Afetiva indicou a composição principal e aceitação do produto, respectivamente, com significância de 95 % (FERREIRA et al., 2000).

Após avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) o protocolo de pesquisa intitulado “Perfil sensorial de adoçante de maçã cultivar Gala”, foi aprovado com número 0621/08.

Determinação da concentração ideal de sacarose

A concentração ideal de sacarose foi determinada através de um Teste de Aceitação, utilizando Escala do Ideal, método afetivo aplicado devido à confiabilidade e validade de seus resultados e à simplicidade em ser utilizado pela equipe (CARDOSO, BATTOCHIO, CARDELLO, 2004). Foram utilizados 42 provadores não treinados, consumidores habituais de açúcar (sacarose) (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002). As amostras foram apresentadas de forma monádica, sendo testadas as concentrações de 5,00; 7,50; 10,00 e 12,50 % de sacarose, aplicadas em água mineral. A cada provador foi pedido para experimentar cada amostra e dentre elas escolher a que mais gostou (Figura 5).

Universidade Estadual de Ponta Grossa					
Departamento de Engenharia de Alimentos					
Laboratório de Análise Sensorial					
Nome:			Data:		
Avalie a doçura das amostras de soluções em diferentes concentrações sacarose e indique, utilizando a escala abaixo, o quão próximo ao ideal encontra-se a doçura de cada uma.					
()	()	()	()	()	Extremamente mais doce que o ideal
()	()	()	()	()	Muito mais doce que o ideal
()	()	()	()	()	Mais doce que o ideal
()	()	()	()	()	Moderadamente mais doce que o ideal
()	()	()	()	()	Ideal
()	()	()	()	()	Moderadamente mais doce que o ideal
()	()	()	()	()	Menos doce que o ideal
()	()	()	()	()	Muito menos doce que o ideal
()	()	()	()	()	Extremamente menos doce que o ideal

Figura 5 – Modelo de ficha aplicada para determinar a concentração ideal de sacarose

Pré-seleção de julgadores

Os candidatos recrutados, consistindo em 18 pessoas, foram submetidos a testes sensoriais quanto à memória e percepção olfativa (Reconhecimento de Odor), identificação de gostos básicos e capacidade discriminatória (teste triangular) (DA SILVA; SAMPAIO; BERTOLINI, 2003).

Para o teste de gostos básicos foram utilizados 4 padrões: ácido cítrico, cafeína, sal e sacarose representando o ácido, amargo, salgado e doce (Tabela 5). O critério de aceitação foi de 70% de acerto (FERREIRA et al., 2000).

Tabela 5 – Concentrações das soluções padrões dos quatro gostos utilizados

Soluções	Concentração (g/L)
Ácido cítrico	0,14
Cafeína	0,07 e 0,14
Sal	1,5
Sacarose	4; 8 e 16

Para o teste de odores foram utilizados 3 odores frutais, 2 odores resinosos e 2 odores de queimado (Quadro 1).

Quadro 1 – Identificação de três classes de odores

FRUTAL	2 mL de suco de maçã em 10 mL de água, agitar e passar 2 mL para o tubo do teste.
	2 g de banana em 10 mL de água, agitar e passar 2 mL para o tubo do teste.
	TANG de uva, preparar segundo a instrução da embalagem, agitar e passar 2 mL para o tubo do teste.
RESINOSO	2 g de batata em 10 mL de água, agitar e passar 2 mL para o tubo do teste.
	2 mL de água sanitária em 10 mL de água, agitar e passar 2 mL para o tubo do teste.
QUEIMADO	Preparar café forte, coletar 2 mL, diluir em 10 mL de água e passar 2 mL da solução para o tubo do teste.
	2 g de fumo em 10 mL de água, agitar, coar e passar 2 mL para o tubo do teste.

Em seguida, foi realizado o Teste Triangular, analisado através do método Sequencial de Wald, no qual os candidatos receberam soluções, em água mineral, de sacarose na concentração definida como ideal (7,50%); e soluções nas concentrações de 5,0 % 9,5 e 8,3%. As amostras foram apresentadas nas 6 combinações possíveis, de forma casualizada para cada provador (FERREIRA et al., 2000). A ficha aplicada está representada na Figura 6.

SELEÇÃO DE JULGADORES TESTE TRIANGULAR		
Nome:.....		Data:.....
Você está recebendo amostras codificadas de soluções em diferentes concentrações de sacarose. Avalie cada grupo separadamente, sendo que duas amostras são iguais e uma diferente. Por favor, prove cada uma das amostras da esquerda para a direita e identifique a amostra diferente (dentro de cada grupo) com um círculo. Lave a boca com água entre cada amostra.		
Comentários:.....		

Figura 6 – Modelo de ficha aplicada no teste triangular para a seleção dos candidatos

A aceitação ou rejeição dos candidatos foi realizada através do gráfico da figura 7, tendo como parâmetros para a construção das retas de separação das regiões: $p_0 = 1/3$ (máxima habilidade inaceitável) e $p_1 = 2/3$ (mínima habilidade aceitável), $\alpha = 0,05$ (probabilidade de aceitar um candidato sem acuidade sensorial) e $\beta = 0,10$ (probabilidade de não aceitar um candidato com acuidade sensorial) (FERREIRA et al., 2000).

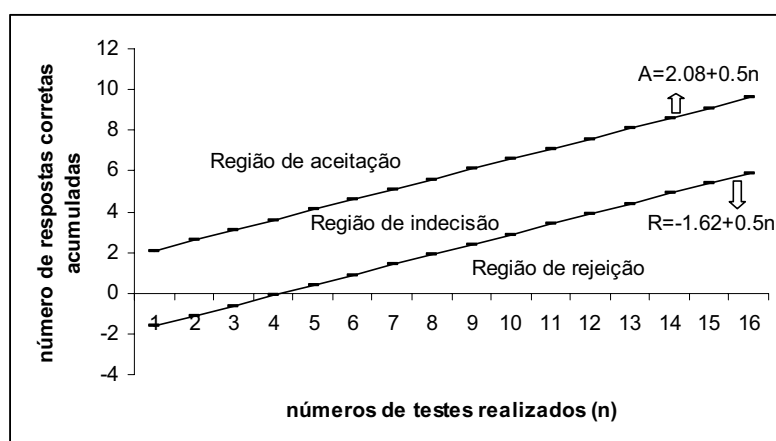


Figura 7 – Gráfico utilizado para a seleção dos provedores através da análise sequencial de Wald.

Determinação da Equivalência de Doçura

A medida do poder edulcorante do adoçante de maçã foi realizada segundo o método de estimação de magnitude descrito por Moskowitz (1974), o qual proporciona a equivalência de doçura do adoçante de maçã em relação à sacarose.

As amostras foram apresentadas aos julgadores em cabines individuais, sob luz branca, codificadas com números aleatórios de três dígitos, com utilização do delineamento de blocos completos inteiramente ao acaso, acompanhados de uma amostra referência de solução de sacarose na concentração definida como ideal (7,50 %) (CARDELLO et al.,

2000). A partir da análise sequencial de Wald oito provadores foram selecionados em função do poder discriminativo e avaliaram o adoçante aplicado em três concentrações, com fator de multiplicação de 1,2. Os provadores receberam uma amostra referência (solução de sacarose a 7,50%), com intensidade de doçura designada por um valor arbitrário 100, seguida de várias outras amostras codificadas e em ordem aleatória, com intensidades maiores e menores que a referência (Tabela 6).

Tabela 6 – Concentrações utilizadas de edulcorantes para a determinação da equivalência de doçura em solução de sacarose a 7,50%

Edulcorantes	Concentrações (% massa)		
	7,50	9	10,80
Sacarose			
Adoçante de maçã	5	6	7,20

Não se aplicou treinamento para a utilização da Escala de Magnitude uma vez que os provadores já estavam devidamente preparados para tal, visto que a análise sequencial é considerada mais rigorosa do que as demais para seleção de provadores (REIS, 2007).

Os provadores foram informados que não poderiam atribuir valor zero e que poderiam provar a amostra referência sempre que julgassem necessário (CARDOSO, BATTOCHIO, CARDELLO, 2004). A ficha utilizada está representada na Figura 8.

Estimativa de Magnitude	
Nome:	Data:
Por favor, prove primeiramente a amostra referência (R) que possui valor 100 para a intensidade de doçura (magnitude). Em seguida avalie a intensidade de doçura de cada amostra codificada em relação à amostra referência (R). Por exemplo, se a amostra codificada for 2 vezes mais doce que a amostra R, dê à amostra codificada o valor 200, se for 2 vezes menos doce, dê o valor 50, e assim por diante. A nota zero não pode ser atribuída à nenhuma amostra. A amostra R pode ser provada periodicamente conforme necessário.	
Amostra	Valor
R	100
Comentários: _____	

Figura 8 – Modelo da ficha aplicada para a Estimativa de Magnitude do adoçante de maçã

Para a análise dos dados, os valores de magnitude de doçura estimados (S) (notas atribuídas a cada amostra em relação à referência) foram expressos utilizando média geométrica. As curvas para concentração e resposta sensorial para o adoçante de maçã corresponde a uma função de potência (“Power Function”) segundo a Equação 3:

$$S = aC^n \quad \text{Equação (3)}$$

Onde “S” é a sensação percebida por um estímulo, “C” é a concentração do estímulo, “a” é o antilog do valor de y no intercepto e “n” o coeficiente angular da reta obtida (MOSKOWITZ, 1970).

A partir da determinação da concentração do adoçante de maçã, pode ser obtido o Poder Adoçante, definido como o número de vezes que um composto é mais doce, com base em sua doçura equivalente à sacarose. A obtenção do poder adoçante pode ser feita através da Equação 4:

$$P_{ad} = S_{ac} / C_{ad} \quad \text{Equação (4)}$$

Em que P_{ad} corresponde à potência do adoçante e C_{ad} à concentração do adoçante em mesma equivalência à solução de sacarose, no caso, a 7,50%.

Levantamento dos Termos Descritivos - ADQ

Na primeira reunião com os provadores, foi obtida uma lista de termos que, em discussão entre os mesmos, originou uma lista final de atributos para o adoçante, aplicado em água mineral na concentração determinada na Estimativa de Magnitude. A análise foi realizada em cabines individuais e as amostras apresentadas em copos com capacidade para 50 mL, codificados com 3 dígitos. O experimento foi conduzido em apresentação monádica com 3 repetições ao acaso (BANNWART et al., 2008). Os termos descritivos foram definidos bem como seus extremos de percepção, apresentados no Quadro 2.

Quadro 2 – Definições e referências para os termos descritivos

(continua)

ATRIBUTO	DEFINIÇÃO	REFERÊNCIAS
Doçura inicial	É o gosto doce percebido no instante em que uma determinada substância entra em contato com os botões gustativos.	<u>Fraco</u> : solução de sacarose a 4% em água mineral. <u>Forte</u> : Solução de sacarose a 10% em água mineral.
Doçura residual	É o gosto doce que permanece por um período de tempo após a ingestão de uma determinada substância.	<u>Fraco</u> : Água mineral adoçada com 0,05% de adoçante comercial (sacarina/ciclamato). <u>Forte</u> : Água mineral adoçada com 0,1% de adoçante comercial (sacarina/ciclamato).
Acidez	É o gosto percebido nas laterais da língua no instante em que uma determinada substância entra em contato com os botões gustativos.	<u>Fraco</u> : água <u>Forte</u> : Solução aquosa de 0,25% de ácido málico e 7,5% de sacarose.
Adstringência	É a sensação de leve secura quando uma determinada substância entra em contato com os botões gustativos.	<u>Fraco</u> : água <u>Forte</u> : Solução aquosa de 0,125% de ácido málico, 0,225% de ácido tânico, 7,5% de sacarose e 6 mL de aroma de maçã concentrado.
Aroma	Característico de suco de maçã recém-extraído.	<u>Fraco</u> : água <u>Forte</u> : Aroma de maçã concentrado obtido da Fisher, diluído 5 vezes.

Quadro 2 – Definições e referências para os termos descritivos

(conclusão)

Cor amarelada	Característica de suco de maçã.	<u>Fraco</u> : suco de manga concentrado diluído 15 vezes. <u>Forte</u> : suco de manga concentrado.
Turbidez	Característico de suco de maçã bruto (sem clarificação).	<u>Fraco</u> : suco de abacaxi concentrado e de manga na proporção de 3:1. <u>Forte</u> : suco de manga concentrado e de abacaxi concentrado, misturados na proporção de 1:1.

Treinamento dos provadores - ADQ

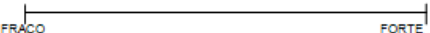
A avaliação foi realizada por escala não-estruturada de 9 cm, cujos extremos definidos pela equipe expressam máximo e mínimo de intensidade das características (Figura 9).

ADQ

Nome: Data:

Por favor, prove a amostra e avalie cada um dos atributos, indicando com um traço vertical o ponto da escala que melhor quantifique a intensidade de cada atributo.

APARÊNCIA

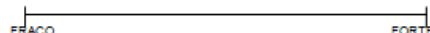
COR AMARELADA FRACO  FORTE

TURBIDEZ POUCO  MUITO

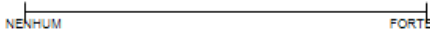
AROMA

MAÇÃ FRACO  FORTE

SABOR

DOÇURA INICIAL FRACO  FORTE

ACIDEZ NENHUM  FORTE

ADSTRINGÊNCIA LEVE NENHUM  FORTE

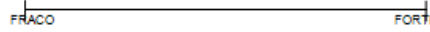
DOÇURA RESIDUAL FRACO  FORTE

Figura 9 – Modelo de ficha aplicada para a avaliação dos atributos sensoriais do adoçante de maçã.

Para o treinamento, foram utilizados dois tratamentos com três repetições para avaliar cada atributo, apresentadas de forma monádica. Os dados foram analisados pela ANOVA, para obter informações sobre a repetibilidade e o poder de discriminação dos provadores, com duas fontes de variação (repetição e amostra) para cada atributo sensorial. Foram selecionados os provadores com F_{provador} e $F_{\text{repetição}}$ não significativos para $p > 0,05$ e concordância das médias com as da equipe (valores de médias de cada provador na mesma ordem e próximos à média da equipe para cada atributo avaliado) (POWERS, CENCIARELLI, SHINHOLSER, 1984).

Avaliação da amostra

Aos julgadores foi apresentada a amostra, em 5 repetições, utilizando os atributos levantados na ficha da Figura 9 e foram selecionados através dos mesmos parâmetros utilizados no treinamento.

Aceitação

A amostra, consistindo em adoçante de maçã aplicado em água mineral na concentração de 8,86% (definida pela estimativa de magnitude) foi avaliada por 108 consumidores, utilizando escala hedônica de 7 pontos (Figura 10) (ABNT, 1993).

Universidade Estadual de Ponta Grossa
Departamento de Engenharia de Alimentos
Laboratório de Análise Sensorial

Nome: (opcional)..... Data:

Você está recebendo uma amostra de adoçante de maçã em água. Por favor, prove a amostra e avalie segundo a escala abaixo o quanto você gostou ou desgostou do produto:

7 - Gostei muitíssimo

6 - Gostei muito

5 - Gostei

4 - Indiferente

3 - Desgostei

2 - Desgostei muito

1 - Desgostei muitíssimo

Amostra
Valor

Observações:.....

Figura 10 – Modelo de ficha aplicada para determinar a aceitação do adoçante de maçã

4.2.3 Delineamento experimental

A influência da temperatura, do sistema de enxágüe e do tamanho do corte foi determinada pelos resultados de um planejamento fatorial 3^2 composto axial com ponto central, com validade na faixa de domínio apresentada na Tabela 7.

Tabela 7 – Domínio do delineamento experimental fatorial 3^2 , composto axial com ponto central (3 fatores, 1 bloco, 16 experimentos)

Níveis	X1	X2	X3	Temperatura (°C)	Rinsagem	Corte
-Axial	-1.682	-1.682	-1.682	50	1,32	Menor*
Mínimo	-1	-1	-1	60	2	Pequeno
Médio	0	0	0	75	3	Médio
Máximo	+1	+1	+1	90	4	Grande
+Axial	+1.682	+1.682	+1.682	100	4,68	Maior*

* proporcional à -1,682 e a +1,682

A fim de confirmar o efeito do tamanho do corte nos indicadores de qualidade (granulometria e cor) foram feitos experimentos com fragmentos pequenos e amorfos (menor faca do processador), médios (cubos de $0,5\text{ cm}^3$) e grandes (toletes com $0,5\text{ cm}^2 \times 3\text{ cm}$), em duplicata.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo abrange os resultados obtidos durante os experimentos, começando com a estabilização do bagaço de maçã, continuando com a obtenção, caracterização química e instrumental, e sensorial do adoçante de maçã.

5.1 ESTABILIZAÇÃO DO BAGAÇO DE MAÇÃ

5.1.1 Rendimentos

Na Tabela 8 estão apresentados os valores médios obtidos para as quatro cultivares em rendimento de suco de 49,79% e de bagaço desidratado de maçã de 4,49%, observados como resultado do experimento multivariado.

Qualitativamente todos os compostos solúveis da maçã estão presentes no suco *premium* com exceção dos compostos fenólicos, que se encontram preferentemente particulados tanto com fibras solúveis quanto com insolúveis (SMOCK; NEUBERT, 1950). O rendimento de bagaço depende se no processamento do suco é feita a etapa de rinsagem com nova extração e adição no suco *premium* visando aumentar o rendimento do suco, o que é comum em unidades industriais com capacidade de evaporação. Em nível de laboratório a rinsagem é feita para eliminar os sólidos solúveis superficiais a fim de beneficiar o processo de desidratação, levando à obtenção de um produto não higroscópico (PAGANINI et al., 2005), com um rendimento médio de 4,49kg/100Kg, condizente com a realidade e com a literatura (SATO et al., 2010).

O produto seco, após passar por uma etapa de moagem com equipamento de facas, pode ser fracionado por tamisação para constituir 3 frações, uma que fica retida na malha 20

Mesh, com resíduos de cascas e celulose, outra que fica retida na malha 42, com fragmentos médios e a que fica retida em malha 60, um pó homogêneo denominado bagaço desidratado de maçã.

Tabela 8 - Rendimento do processamento de suco de maçã

Variável	N	Valores Médios	Mínimo	Maximo	Desvio
Suco, L/100Kg	16	49,78	36,38	63,11	5,76
Bagaço kg/100Kg	16	39,96	32,65	49,11	5,57
Bagaço seco kg/100Kg	16	4,49	2,11	9,48	1,94

5.1.2 A influência da temperatura no processo

A secagem, em todos os tratamentos (50-100°C), apresentou características similares, com aumento rápido na temperatura do ar circulante, seguido da manutenção da programada; elevação rápida na temperatura da massa, (calor sensível), seguido de uma fase de estabilização (calor latente), e após, outra elevação (calor sensível) até equilíbrio com temperatura da estufa. Na Figura 11-A são ilustradas as temperaturas na massa, com a influência da temperatura do ar circulante sobre a da massa em calor latente e na Figura 11-B a intensa perda de massa; a comparação mostra a perda de massa até o final da fase de calor latente e sua estabilização associada ao aumento da sua temperatura (calor sensível).

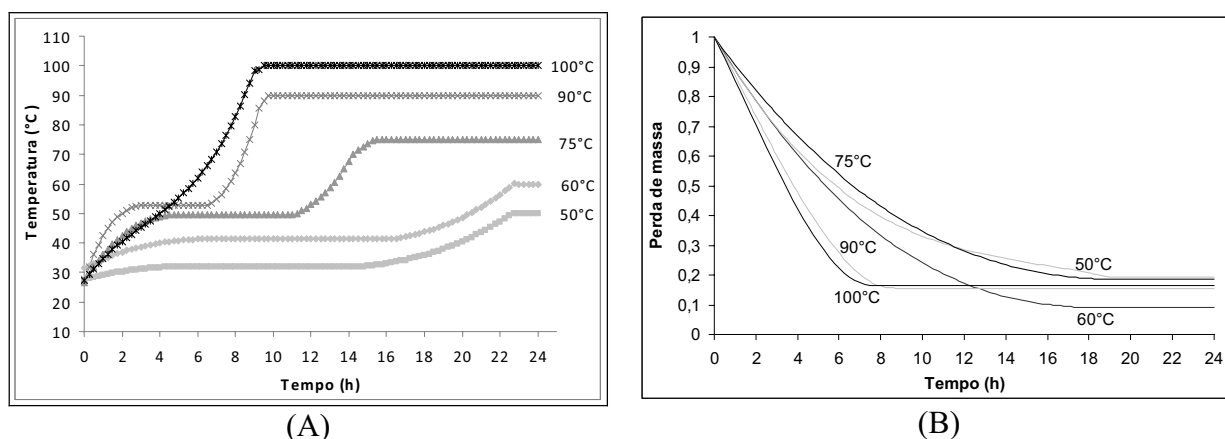


Figura 11 – Monitoramento do processo de desidratação. (A) Temperatura da massa de bagaço, (B) Perda de massa

5.1.3 Processo de desidratação

Os ensaios foram conduzidos durante um tempo relativamente longo e a umidade de equilíbrio foi medida ao final do processo tendo mostrado uma tendência quadrática negativa, na faixa de 50 a 100° C. Em valores baixos de temperatura, de 50 - 60°C a temperatura da massa em evaporação é muito baixa necessitando de mais tempo para a secagem e em valor intermediários de 75°C o processo flui rapidamente enquanto que a 90-100°C a evaporação é rápida com alguns fragmentos ainda contendo água confinada, como apresentado na Tabela 9.

Tabela 9 – Dados da temperatura de secagem e da temperatura de estabilidade da massa de bagaço correspondente

Temp. estufa (°C)	Temp. de estabilidade do bagaço (°C)	Tempo total (h)	Umidade de equilíbrio (%)
50	35	23	11
60	45	17	9
75	50	14	6
90	53	8	16
100	88	7	17

5.1 4 Protocolo de secagem

A partir dos dados apresentados na Tabela 9 obtidos no experimento multivariado (fatorial 3^2 , composto axial com ponto central), foi estabelecido um protocolo de secagem (Figura 12), no qual a temperatura do ar circulante (90°C) é mantida até o término da fase de calor latente e é diminuída até $52,5^{\circ}\text{C}$, o que acarreta uma queda da temperatura da massa para 46°C . Neste procedimento a temperatura interna do bagaço não ultrapassa 46°C .

Com o novo protocolo obtém-se um produto diferenciado em relação aqueles quando são utilizadas temperaturas constantes para secagem com luminosidade de 67 enquanto que nos procedimentos usuais de secagem a luminosidade (L) decresce de 71 a 63 na faixa de 50° - 100°C (Figura 12B). Estes valores não apresentam diferença significativa, porém visualmente esta variação na coloração pode ser observada. Este protocolo evidencia a grande influencia da temperatura no processo, resultando num produto com a melhor combinação aparência/processo.

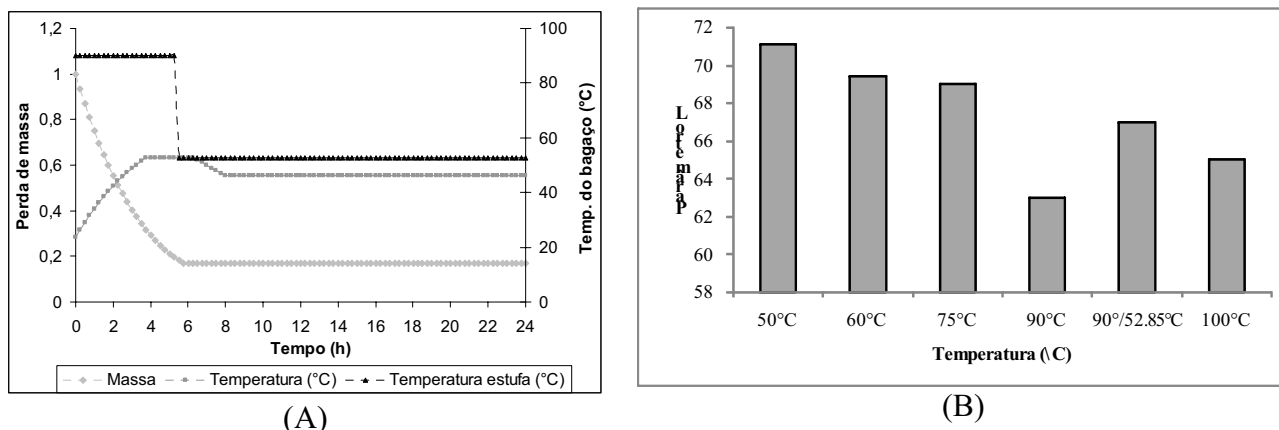


Figura 12 – Desidratação do bagaço de maçã. (A) Perfil do processo com temperatura inicial de 90°C e etapa complementar a $52,5^{\circ}\text{C}$. (B) Clareza (L) do bagaço seco, moído e tamisado

5.1.5 Aparência

Os valores das médias dos três parâmetros colorimétricos, “a”, “b” e “L”, foram tabelados, formando uma matriz 24 x 3, utilizada para a análise de componentes principais (PCA), sendo que com três componentes 100% dos dados foram explicados.

A Figura 13A apresenta o mapa de escores entre os três componentes principais (PC1, PC2 e PC3), com o PC1 responsável por 46,4% da variância, PC2 38,1% e o PC3 14,5%, demonstrando boa separação e discriminação entre as quatro granulometrias estudadas. Os dados em preto correspondem ao corte pequeno, os dados em rosa ao corte médio e os em verde, ao grande. Não ocorre separação significativa entre os cortes com 20, 42 e 60 Mesh. A granulometria de 80 Mesh apresenta os três cortes com maior separação, evidenciando melhor a influência de cada tamanho. Este gráfico dos escores pode ser correlacionado com o diagrama de pesos (Figura 13B), mostrando que cada granulometria pode ser associada a um parâmetro colorimétrico específico. Assim, 20 e 42 Mesh apresentam maior relação com o parâmetro “a”, já 60 Mesh com o “b” e 80 Mesh com o “L”, o qual apresenta maior influência na qualidade dos processos de secagem.

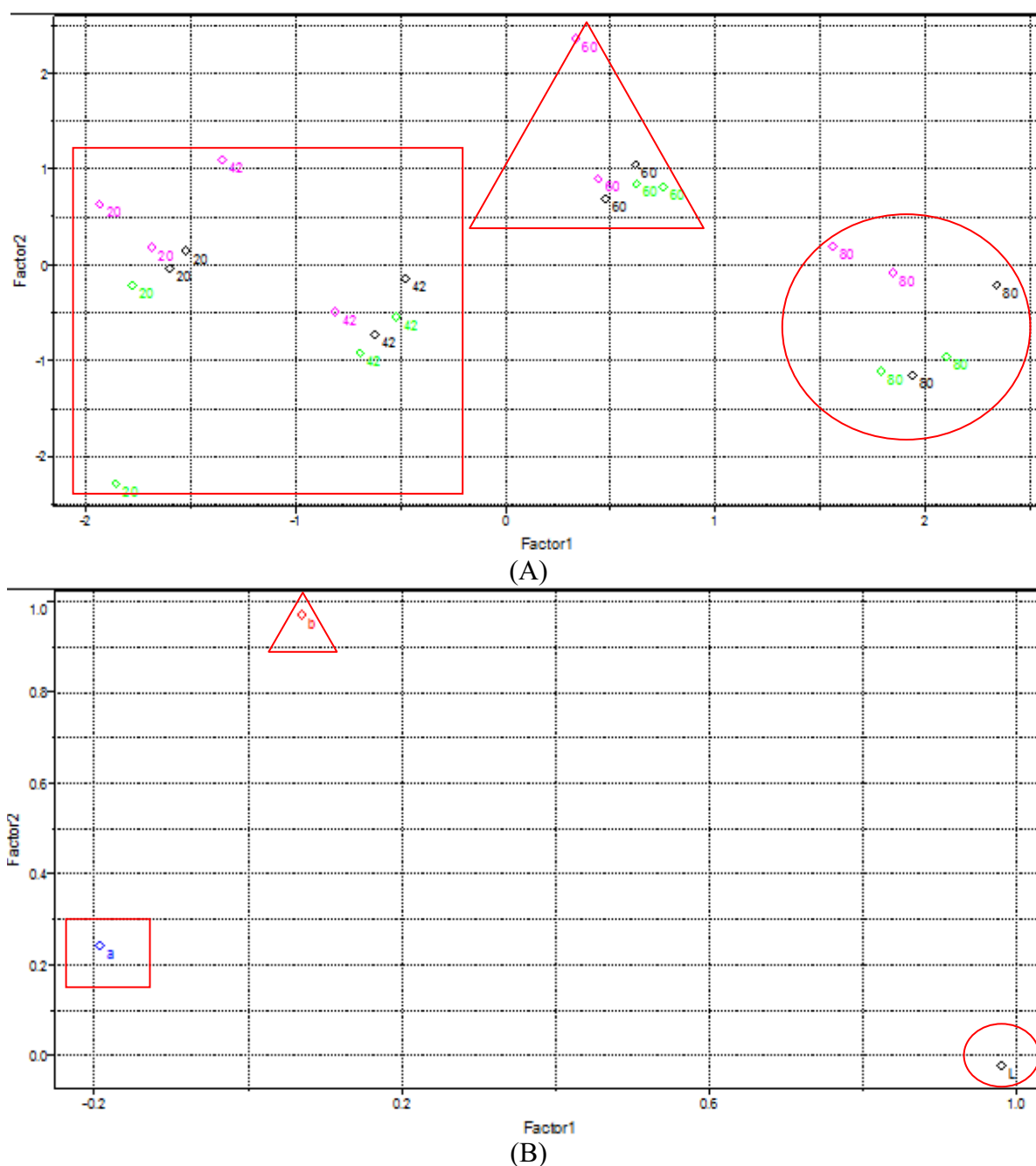


Figura 13 - Análise de componentes principais dos parâmetros colorimétricos L , a e b (A)

Gráfico de escores (B) Diagrama de pesos

Uma possível forma de discriminação entre essas amostras, considerando a semelhanças apresentada por PCA, é sugerida pela análise hierárquica de agrupamentos (HCA) representada na Figura 14. Com HCA é possível confirmar os resultados obtidos com PCA e visualizar claramente alguns agrupamentos formados pelo conjunto das amostras que não apresentaram grupos evidentes em PCA. Foram formados dois grupos com grau de

similaridade de 0,646, sendo que o primeiro compreende as granulometrias de 20 e 42 Mesh e o segundo, 60 e 80 mesh.

Através do PCA e HCA pode ser observado que as granulometrias de 60 e 80 Mesh formam um único grupo o qual apresenta maior influencia do parâmetro colorimétrico “L”.

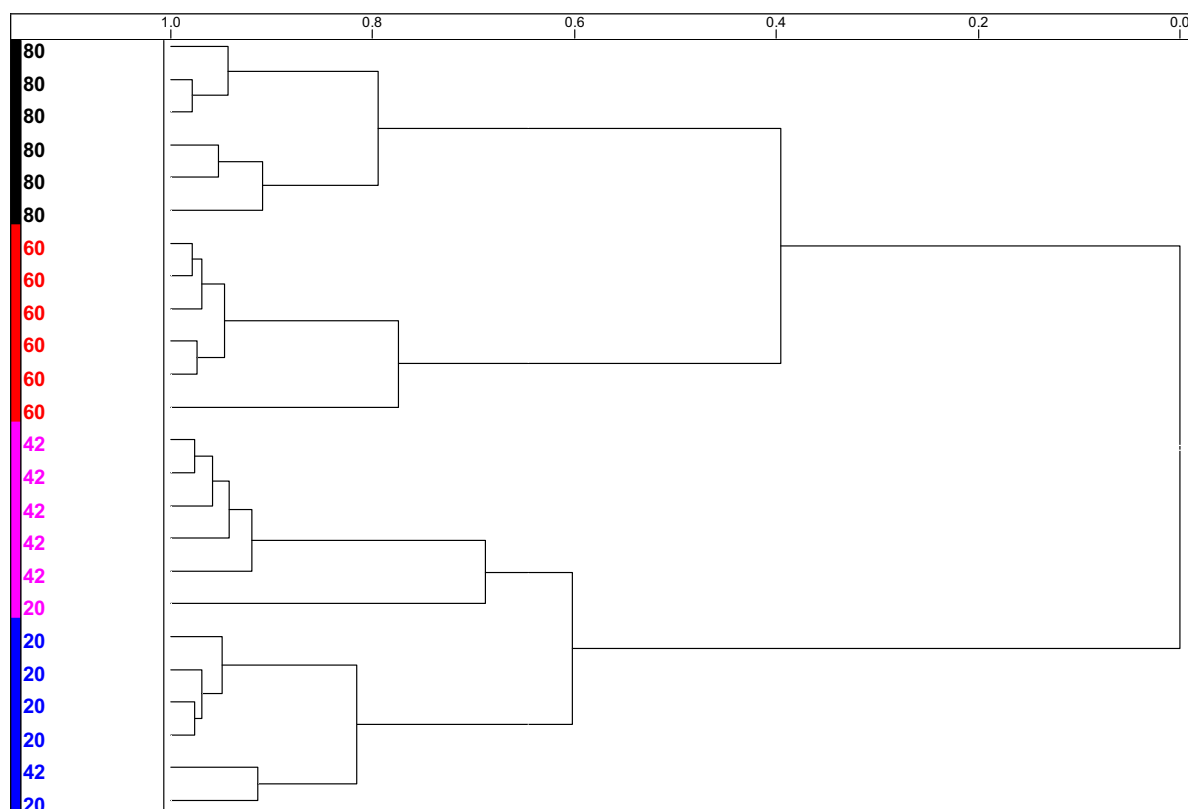


Figura 14 - Dendrograma das granulometrias relativas a cada tamanho de corte do bagaço

5.1.6 Granulometria

A Figura 15 apresenta o efeito do tamanho dos fragmentos de maçã na granulometria do bagaço posteriormente cominuído em moinho de martelos, em procedimentos separados, porém semelhantes em termos de carga e de tempo de operação. O tamanho pequeno apresentou material com uma granulometria maior, e maior percentual retido em todos os tamises enquanto que o tamanho grande apresentou granulometria menor e menor percentual retido. A fim de dar maior homogeneidade aos trabalhos foi feita a junção das duas frações de

fragmentos menores, a 60 e 80 Mesh, uma vez que são mais homogêneos e representativos como representado na Figura 15.

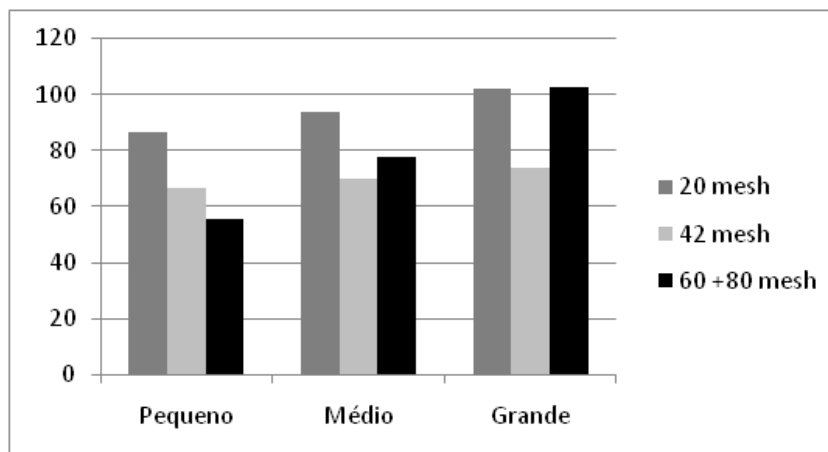


Figura 15 - Distribuição granulométrica do bagaço seco, moído e tamisado

5.1.7 Teor de açúcares redutores totais

Como critério de qualidade, bem como a escolha do processo e a aparência, o teor de açúcares foi determinado, em vista da importância desta composição para a obtenção do adoçante de maçã. Os valores referentes à frutose são de 26,25 g/%, de glucose 8,92 g/% e de sacarose 11,77 g/%. Esta composição ternária é observada na fruta e no suco, porém em proporções e quantidades diferentes (WOSIACKI, 2008). Em trabalho realizado com bagaço seco de maçã de 26 variedades, Queji (2008) obteve resultados semelhantes.

5.2 OBTENÇÃO DO ADOÇANTE DE MAÇÃ

5.2.1 Processo

a. Etapas do processamento e caracterização enzimática

A partir do bagaço de maçã estabilizado por desidratação em estufa, foi obtido o adoçante de maçã, segundo as etapas e quantidades indicadas no fluxograma da Figura 16.

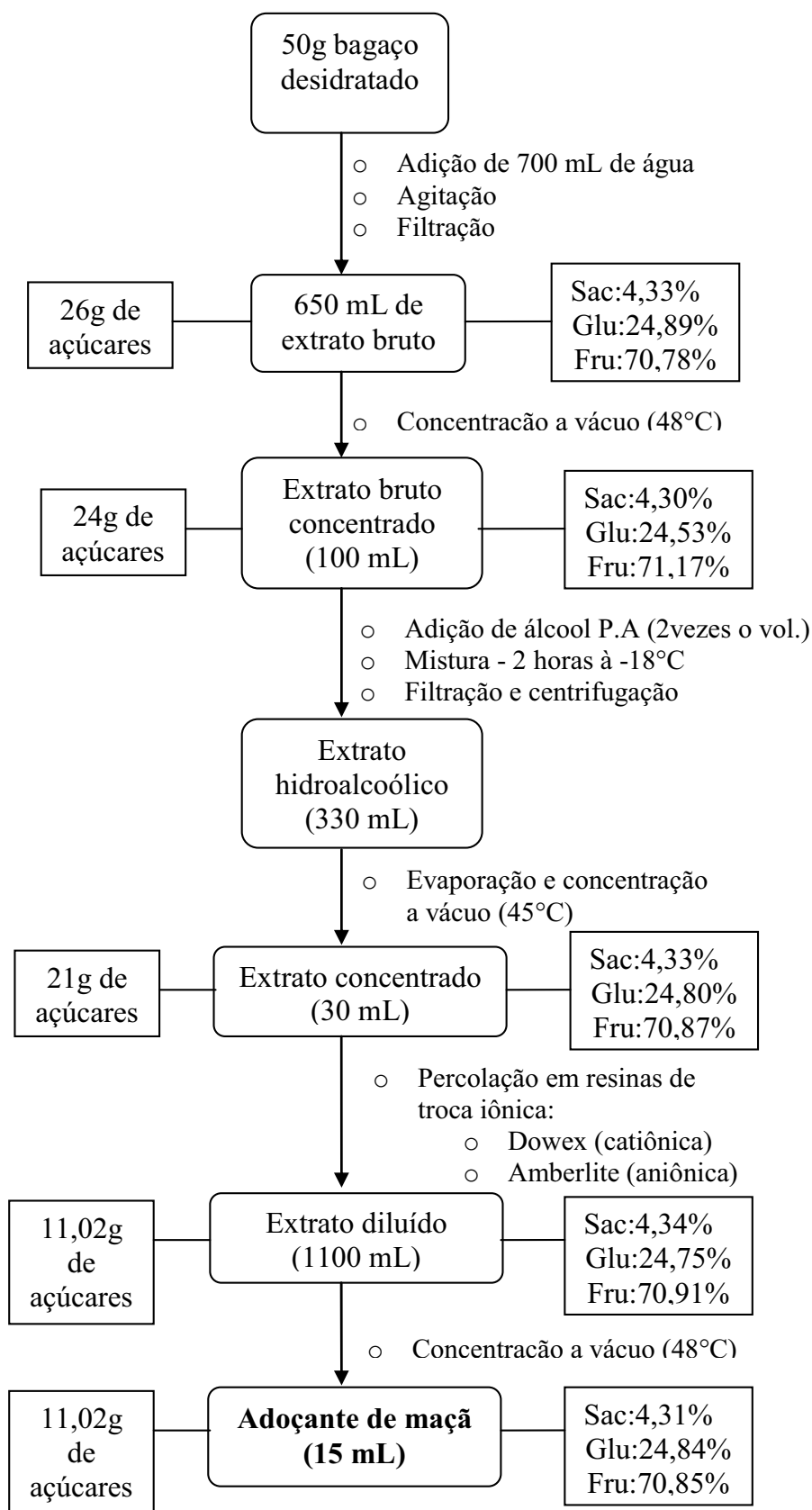


Figura 16 – Fluxograma de obtenção do adoçante de maçã

No início do processo, a quantidade de açúcares na farinha foi de 26g passando para 11,02g no adoçante final, com rendimento de 42,40 %. A qualidade do adoçante foi preservada durante todo o processo, uma vez que a proporção ternária foi mantida constante estatisticamente.

Na primeira etapa do processo os compostos solúveis do bagaço desidratado foram removidos através da *lixiviação*, extração sólido líquido com água como solvente e foi responsável pelos 4 % de açúcares na solução.

A pectina, composta por cadeias de ácido poligalacturônico parcialmente metoxiladas, é solúvel em água, apresenta concentração variável de grupos metil éster (usualmente 70 %) e grau de neutralização tal que é capaz de formar géis com açúcar e ácido sob condições favoráveis. Devido à capacidade de formar géis com açúcares, a utilização de uma solução hidroalcoólica foi necessária para a remoção da pectina, apesar de uma pequena porção já ter sido carregada.

Com riscos de caramelização as etapas de concentração precisavam ser realizadas sob baixas temperaturas, porém com evaporação e redução de volume. A solução foi a concentração sob vácuo, o que reduziu a temperatura de ebulição da solução para 45°C.

Resinas trocadoras de íons foram responsáveis pela remoção das cargas positivas e negativas que favoreciam cristalizações durante a concentração e contribuíam para o amargor do produto. Apesar da eficiência do processo, açúcares foram perdidos nesta etapa.

Na produção de um açúcar concentrado, obtido de subprodutos da industrialização da laranja, Scordino et al. (2007) observaram que após a adsorção em resina de troca iônica, etapa responsável pela remoção de compostos de amargor e cor, ocorreu redução dos açúcares, com perda de 6,80 % de glucose, 9,85 % de frutose e 8,10 % de sacarose. Nesta etapa, foram eliminados células, proteínas e pectinas, sendo que estas últimas formam gel, polar, capaz de sequestrar, e com isso, carregar consigo, açúcares desejáveis. Não pode ser

considerada a perda por retenção na resina, pois esta foi lavada e exaurida em açúcares, contabilizados na perda anteriormente calculada.

Luz et al. (2008), em trabalho realizado com suco de caju para separação de frutose e glucose, observaram perda nos respectivos açúcares após troca iônica em colunas. Fato explicado por adsorção promovida, em pequena escala, destes pelas resinas.

O produto final, adoçante de maçã, apresenta volume reduzido devido à concentração, de 4° para 73,5° Brix, e coloração escura, uma vez que as resinas permitiram apenas remoção de íons, positivos e negativos. A utilização de resinas associadas a carvão ativado promove a redução da cor e turbidez, como observado por Luz et al. (2008) e Milch et al. (1985), porém exige testes e estudos a respeito da proporção, aplicação, eficiência.

5.2.2 Produto

a. Qualidade determinada por HPLC

A fim de quantificar e confirmar a pureza da composição ternária de açúcares, sacarose, glucose e frutose, foi realizado a análise por HPLC. A frutose exibiu o maior pico (Figura 17) e com isso o maior teor dentre os três açúcares, com 52,51 g %, a glucose que ocupa segundo lugar em quantidade apresentou 21,30 g %, e a sacarose, 1,54 g %, com o menor pico no cromatograma. Os resultados obtidos apresentam diferença significativa em relação aos resultados enzimáticos, porém confirmam a composição e a pureza ternária.

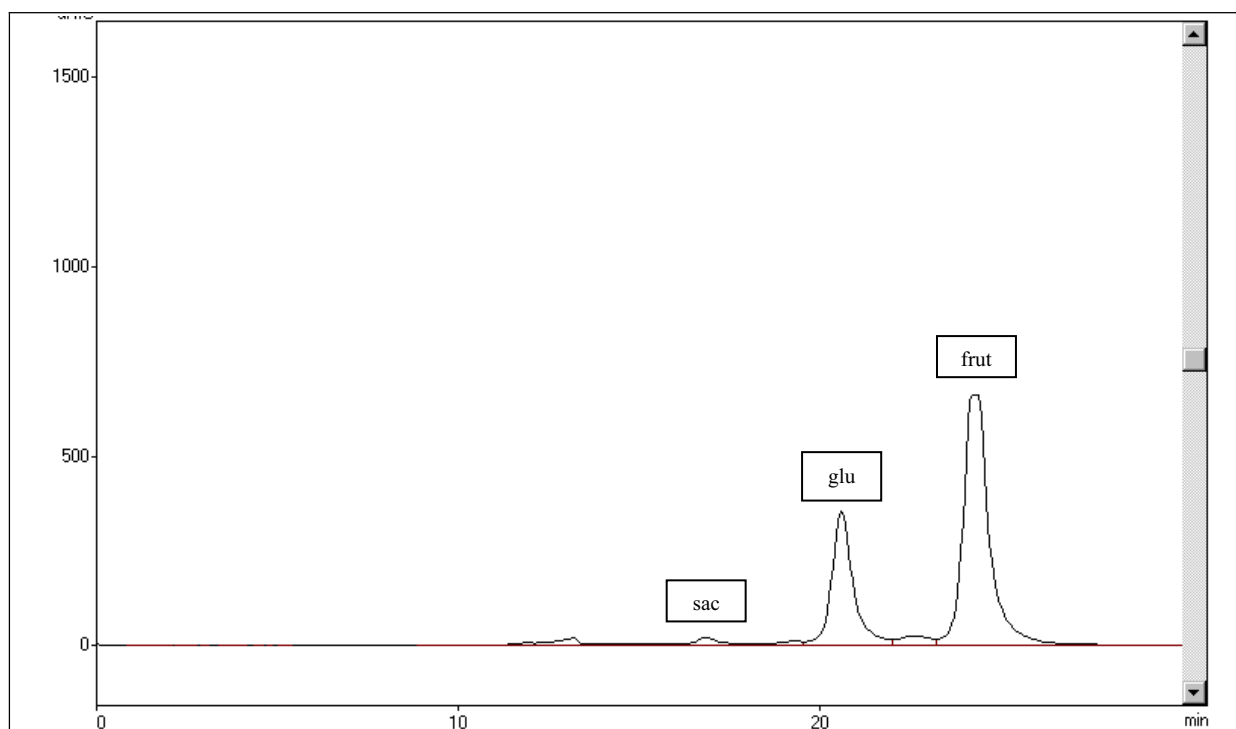


Figura 17 - Cromatograma por HPLC do adoçante de maçã Gala

b. Qualidade Microbiológica

O Adoçante de Maçã obtido apresentou NMP<3/g, em teste microbiológico para avaliar a presença de coliformes totais e fecais. Este resultado indica a estabilidade microbiológica, enquadrando-se nos padrões estabelecidos pela legislação vigente (ANVISA –RDC nº12) do produto e que foram seguidos os procedimentos, BPF, indicados para a obtenção de produtos alimentícios de qualidade.

5.3 CARACTERIZAÇÃO INSTRUMENTAL DO ADOÇANTE DE MAÇÃ

Este tópico abrange a caracterização do adoçante de maçã das quatro variedades realizada por RMN e FTIR (MID).

5.3.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A composição do adoçante de maçã das quatro variedades estudadas foi analisada por espectroscopia de RMN em alta resolução (Figura 18).

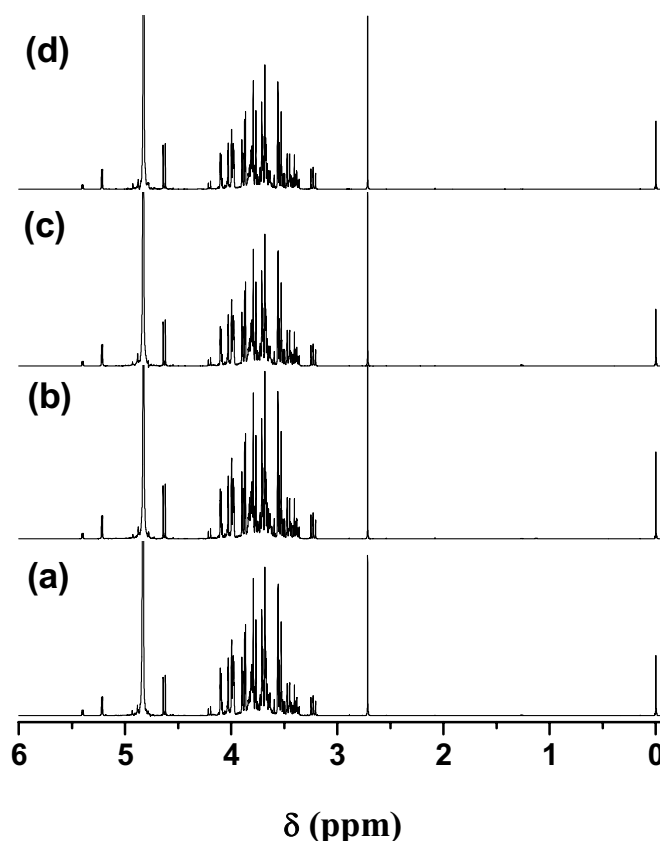


Figura 18 - Espectrograma por ^1H -RMN (400 MHz) do adoçante de maçã Gala (A), Joaquina (B), Fuji (C) e Catarina (D)

O espectro de ^1H RMN que mostra o perfil do adoçante da variedade Gala está apresentado na Figura 19A. A expansão do espectro (Figura 19B), de 5,4 a 4,2 ppm mostra cinco picos - 5.220, 5.211 e 4.639, 4.619 ppm - dos carbonos α e β da glucose, os picos em 5.403, 5.394, 4.215 e 4.193 ppm dos carbonos da sacarose e o pico mais alto, em 4,8 ppm; corresponde à D_2O .

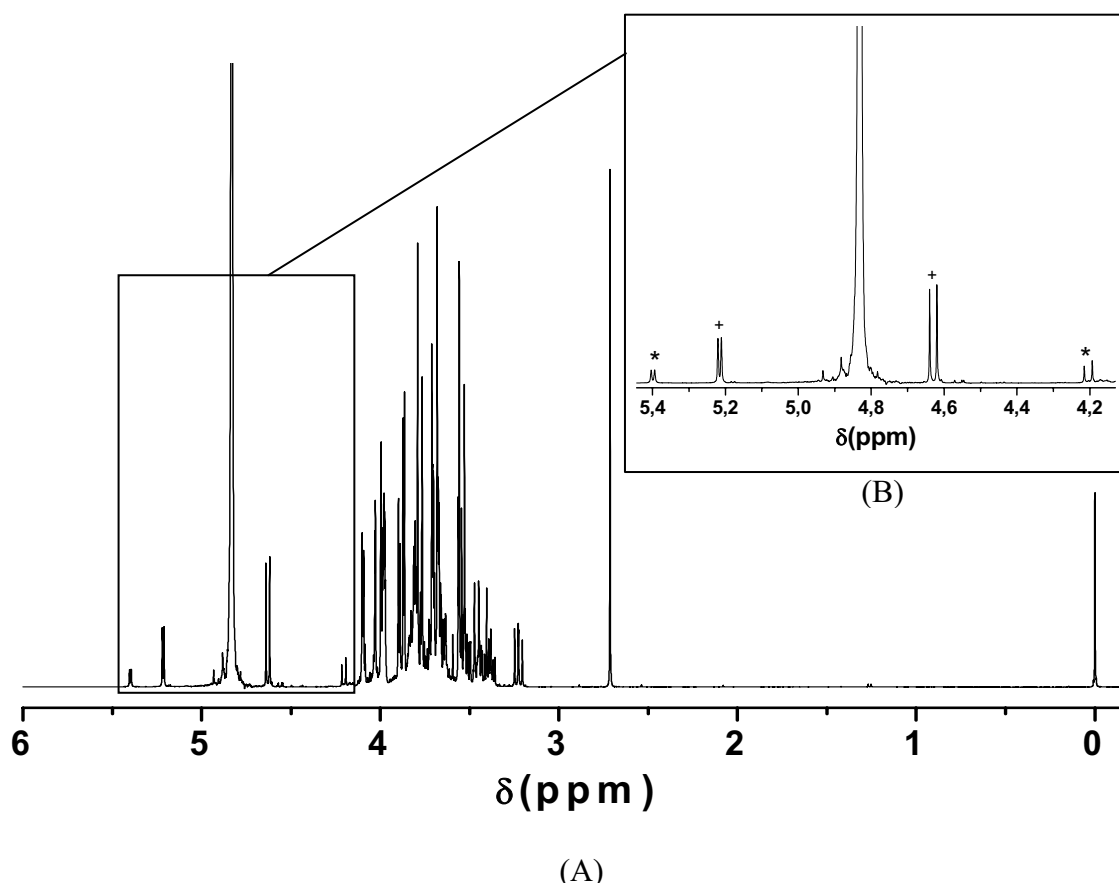


Figura 19 - Espectrograma por ^1H -RMN (400 MHz). (A) Adoçante de maçã Gala (B)

Expansão dos picos correspondentes à D_2O , sacarose (*) e glucose (+)

Nas expansões apresentadas na Figura 20, os picos dos principais açúcares, glucose, frutose e sacarose foram destacados.

Sacarose: Os picos marcados com (*) em 5.403, 5.394, 4.215, 4.193, 4.058, 4.037, 4.015, 3.899, 3.889, 3.884, 3.878, 3.874, 3.869, 3.863, 3.853, 3.842, 3.835, 3.812, 3.805, 3.797, 3.769, 3.745, 3.721, 3.659, 3.559, 3.550, 3.534, 3.525, 3.479, 3.455 e 3.432 ppm.

Glucose: Os sinais com (+) em 5.220, 5.211, 4.639, 4.619, 3.900, 3.895, 3.870, 3.864, 3.845, 3.839, 3.829, 3.823, 3.814, 3.808, 3.804, 3.798, 3.767, 3.753, 3.736, 3.727, 3.720, 3.712, 3.696, 3.681, 3.673, 3.533, 3.523, 3.508, 3.499, 3.494, 3.472, 3.459, 3.449, 3.444, 3.434, 3.429, 3.415, 3.404, 3.392, 3.381, 3.368, 3.357, 3.247, 3.227, 3.224 e 3.204 ppm.

Frutose: O picos em 4.102, 4.092, 4.085, 4.029, 4.026, 3.995, 3.987, 3.983, 3.979, 3.975, 3.897, 3.889, 3.873, 3.864, 3.790, 3.775, 3.766, 3.710, 3.707, 3.702, 3.681, 3.676, 3.663, 3.647, 3.637, 3.634, 3.594, 3.563, 3.557, 3.544, 3.528 e 3.514 ppm, marcados com (x).

A intensidade dos picos mostra que, para esta variedade de maçã, a frutose foi o açúcar encontrado em maior quantidade. A região de concentração dos picos correspondentes aos três açúcares, indo de 3,2 – 5,4 ppm, foi observada também por (BERREGI et al., 2003), em sidra.

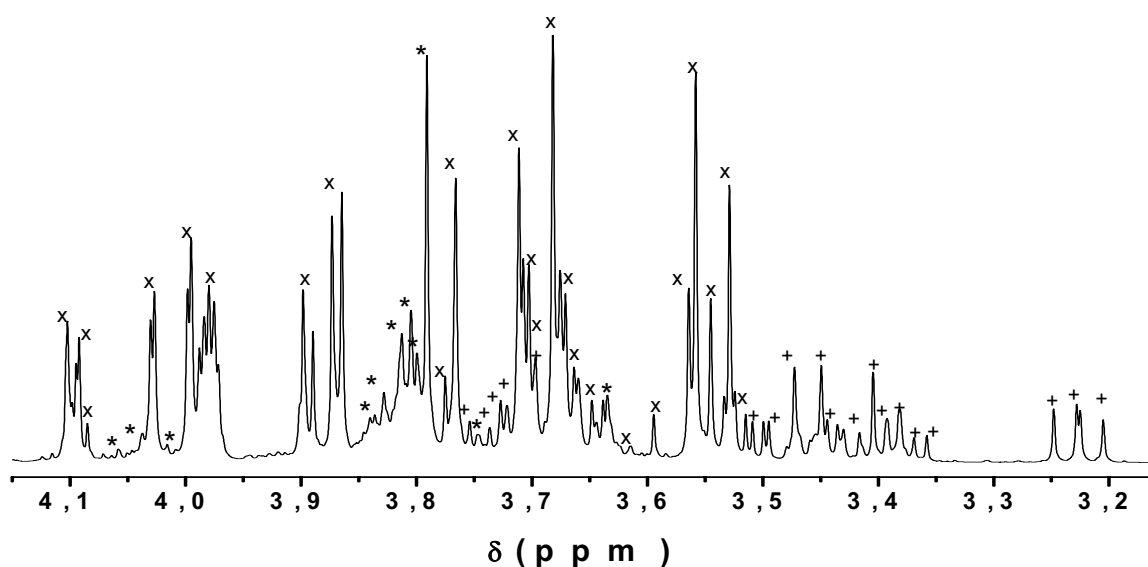


Figura 20 – Espectrograma por ^1H -RMN (400 MHz) com expansão de todos os picos correspondentes à glucose (+), frutose (x) e sacarose (*)

Dentre os picos utilizados para a quantificação de cada açúcar, o obtido em 4,19 ppm para a sacarose, em 3,2 ppm para a glucose e em 3,89 ppm para a frutose também foi observado por Eads e Ni (1993) em frutas e por Moitrier e Rinke, (2007) em suco de laranja.

A análise indicou ausência de sorbitol, ácidos e compostos fenólicos, através de testes com padrões, sendo o adoçante composto apenas pelos três açúcares estudados. A tabela 10 apresenta a quantificação realizada por RMN, com frutose e glucose, em maior quantidade, como observado por Kennedy et al. (1999). As quatro variedades apresentaram proporção

semelhante de frutose, glucose e sacarose, porém a frutose, açúcar natural obtido das frutas, de elevado sabor doce, baixo valor calórico, bioatividade, de baixo impacto na indução da glicemia humana, apresentou maior quantidade, sendo destacada a variedade Gala, com o maior valor. A glucose compreende o segundo lugar em quantidade, com destaque para a variedade Catarina. A observação, em RMN das regiões características dos principais açúcares da maçã, sacarose, glucose e frutose, foi realizada por Eads e Bryant já em 1986, em suco. Observaram que tais açúcares são apresentados em concentrações diferentes dependendo da variedade, processamento e maturação, além de exibirem picos elevados que se sobrepõe aos de ácido málico, precisando este, ter padrões para identificação (EADS e BRYANT, 1986).

Tabela 10 – Dados quantificados por RMN para os açúcares frutose, glucose e sacarose

Variedades	Frutose (%)	Glucose (%)	Sacarose (%)
Catarina	66,61	30,48	2,90
Joaquina	69,55	27,45	2,99
Fuji	67,50	29,48	3,01
Gala	72,90	24,06	3,03

Como avaliação da quantificação realizada por integração de picos, foi aplicada a análise de componentes principais (PCA). A Figura 21A apresenta o mapa de escores com boa explicação por dois componentes principais (PC1 e PC2), com separação entre os açúcares padrões e semelhança entre as amostras. A Figura 21B apresenta o mapa dos pesos no qual estão apresentados os três açúcares padrões, com boa separação. Todos os dados foram importantes, uma vez que se situam longe do cruzamento dos eixos e dentre os três açúcares, a sacarose e a glucose apresentaram menor influência nas amostras, com a maior importância para a frutose.

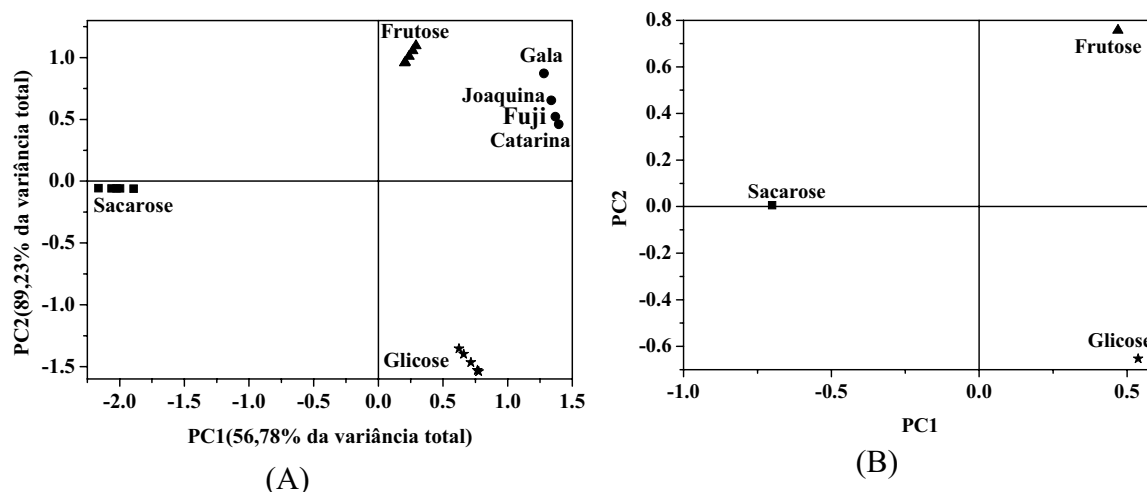


Figura 21 - Análise de Componentes Principais dos açúcares padrões e adoçantes das quatro variedades. (A) Gráfico dos escores, exibindo os quatro adoçantes e as concentrações de 30×10^{-2} ; 275×10^{-3} ; 25×10^{-2} ; 20×10^{-2} e 175×10^{-2} mg, com aumento da esquerda para a direita, de cada açúcar padrão (B) Diagrama de pesos

Através do dendograma da Figura 22 os dados observados em PCA se confirmam, com a formação de três grupos, com grau de similaridade de 0,46. O primeiro formado pela frutose e pelos adoçantes das variedades Gala, Joaquina, Catarina e Fuji, o segundo pela glucose e o terceiro pela sacarose.

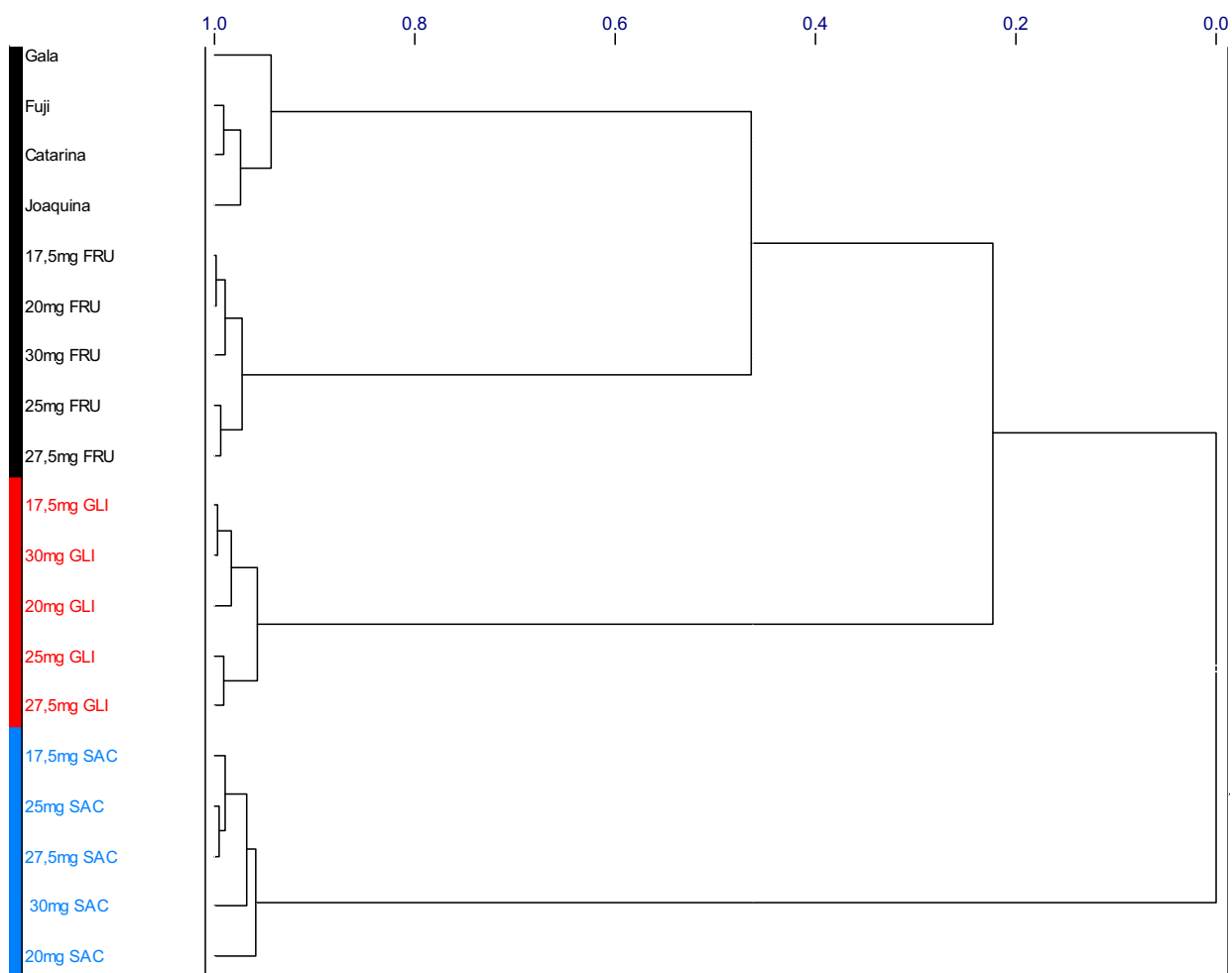


Figura 22 – Dendograma do agrupamento entre as amostras e os açúcares padrões, obtidos por RMN.

5.3.2 Espectroscopia de Infravermelho médio de transformada de Fourier (FTIR)

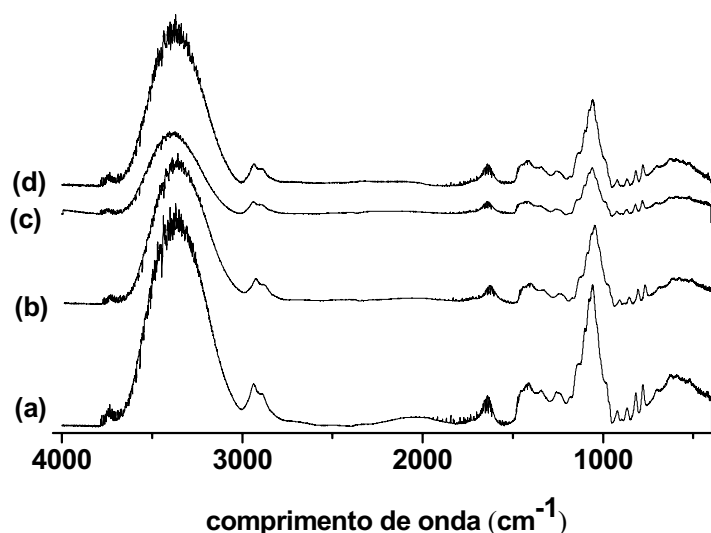


Figura 23 – Espectrograma por FTIR (MID) do adoçante de maçã Gala (A), Joaquina (B), Fuji (C) e Catarina (D)

Nesta técnica analítica, o número e o tipo de ligações das moléculas definem o número e o tipo de transições destas, assim, a identificação de compostos é feita por grupos funcionais. Os espectros, das quatro variedades encontram-se (Figura 23) dentro do mesmo grupo, carboidratos, e com os mesmos principais açúcares constituintes, glucose, frutose e sacarose. De qualquer forma, a presença de vários constituintes em uma amostra, aumenta a probabilidade de sobreposição dos sinais de absorção nos espectros de infravermelho (TOZETTO; DEMIATE; NAGATA, 2007).

A associação entre a avaliação da distribuição de picos em diversas regiões do espectro de infravermelho e a utilização de ferramentas quimiométricas é necessária para que todos os dados sejam analisados sem descarte de informações importantes (COCCHI et al., 2005; HOPKE, 2003; KATEMAN, BUYDENS, 1993). Assim, devido à necessidade da identificação dos picos característicos de cada açúcar, em cada amostra, foram obtidos os espectros em diferentes concentrações de cada açúcar padrão (Figura 24), para a construção

de modelos de calibração dos padrões. A sacarose apresentou dificuldade e erros na construção da curva com quatro pontos, assim, foram acrescentados dois pontos para tal açúcar.

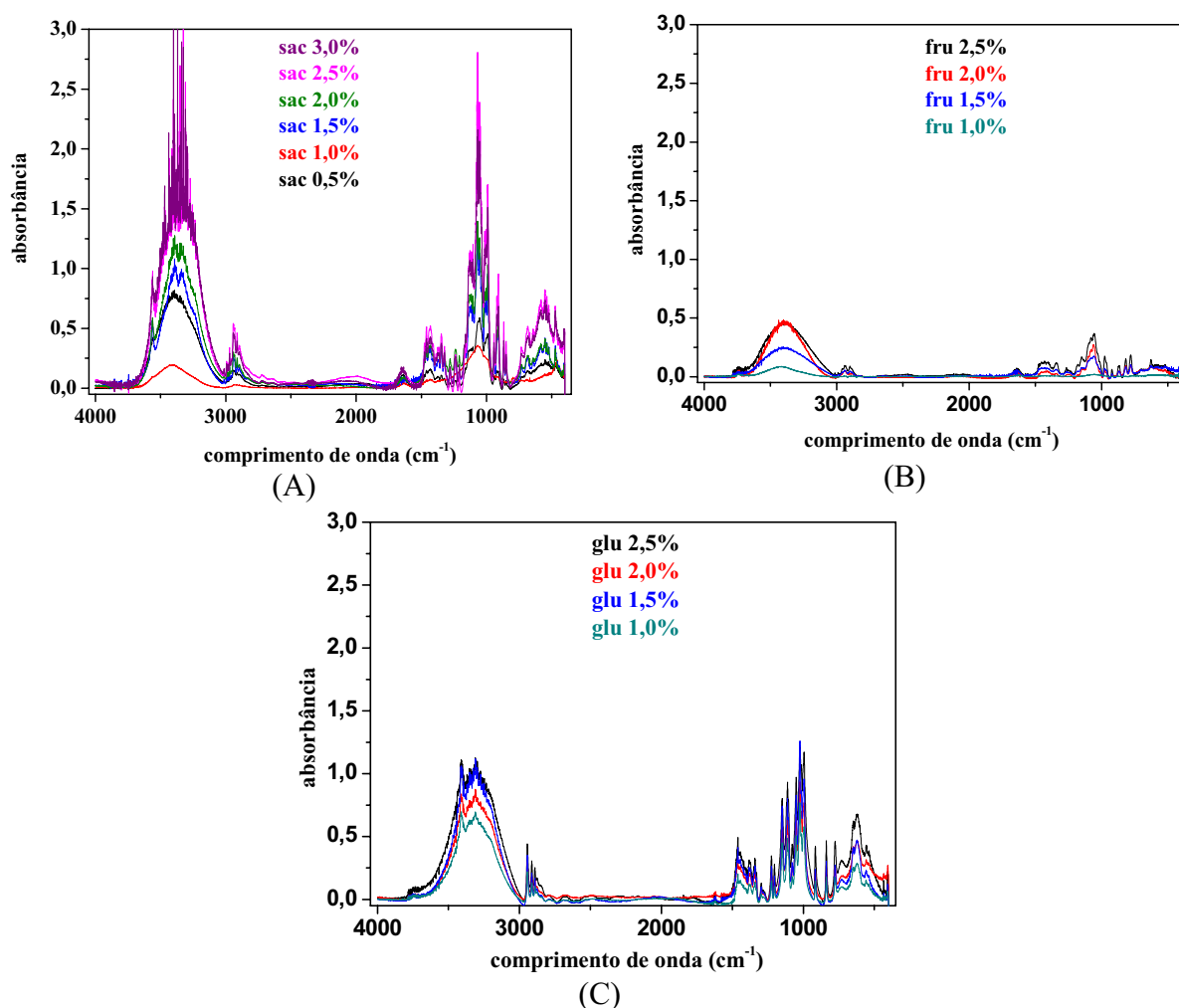


Figura 24 – Espectrograma por FTIR (MID) das quatro concentrações de cada açúcar padrão: sacarose (A), frutose (B) e glucose (C), para a construção das curvas de calibração

Os espectros obtidos dos açúcares padrões foram utilizados para a quantificação dos mesmos, presentes no adoçante de maçã, das quatro variedades. Foram construídos modelos de calibração (Figura 25) de cada açúcar, obtidos através da regressão por mínimos quadrados parciais (PLS).

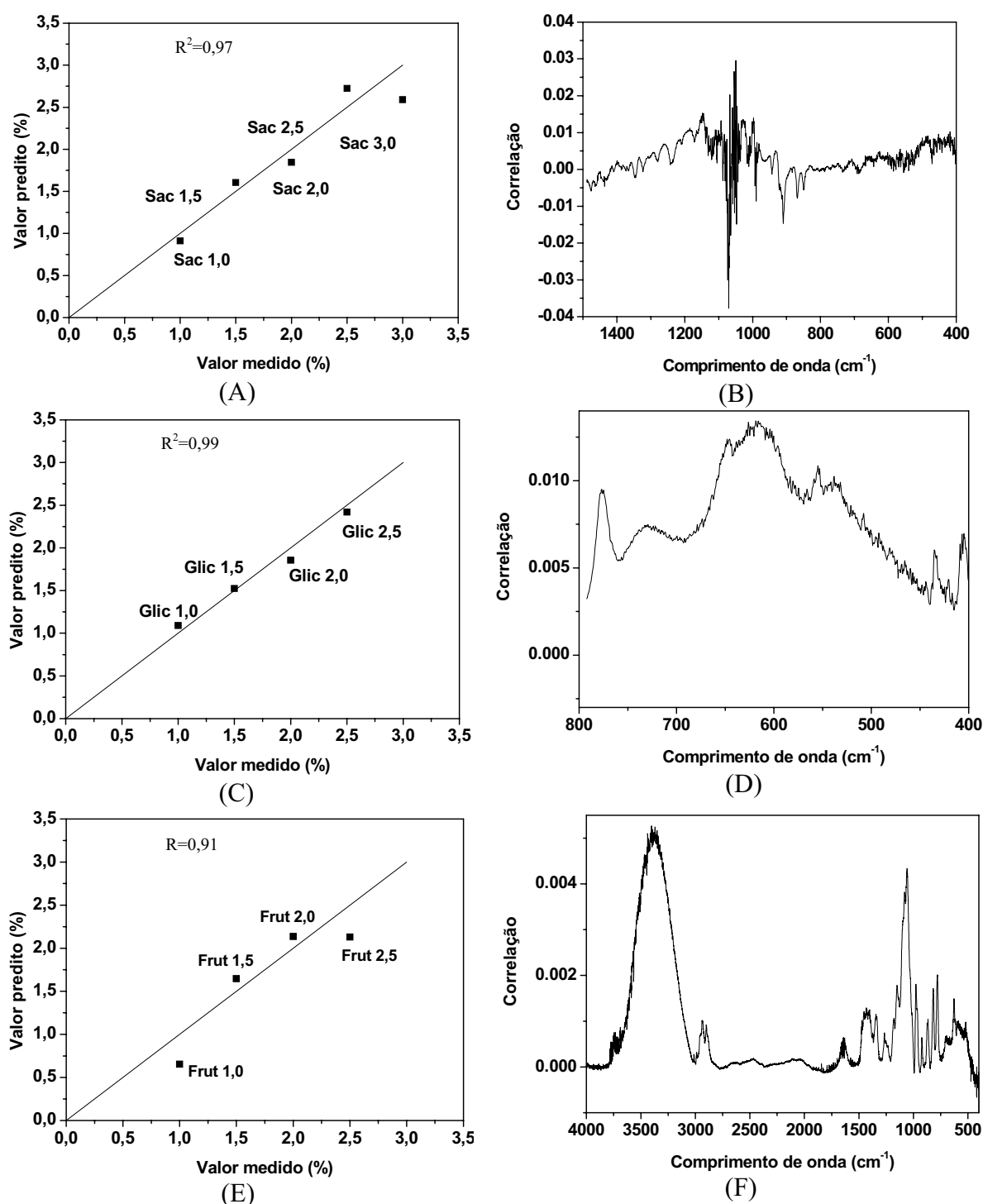


Figura 25 – Relação obtida por PLS entre os valores medidos x preditos em FTIR (MID) para sacarose (A), glucose (C) e frutose (E), usada para a previsão da concentração destes nas amostras. Correlação obtida por PLS para a faixa significativa de: sacarose (B), glucose (D) e frutose (F)

Os três modelos obtidos apresentaram boa correlação entre valores experimentais e previstos, com coeficientes de calibração e validação elevados (Tabela 11).

Tabela 11 - Valores de R_{cal} e R_{val} para os açúcares padrões, obtidos por PLS

	R_{val}	R_{cal}
Sacarose	0,97	0,99
Glucose	0,99	0,99
Frutose	0,91	0,98

Estes valores qualificam tais modelos de calibração para a quantificação de cada açúcar padrão nas amostras, através de predição por PLS.

Para a obtenção dos melhores modelos, algumas regiões dos espectros precisaram ser excluídas, assim, para a glucose a faixa de 792, 59991 – 4000 1230 cm^{-1} foi excluída. (Figura 25D), e para a sacarose, a faixa de 1488, 2939 – 4000, 1230 cm^{-1} (Figura 25B). Estes valores respaldam e validam a predição obtida (Tabela 12), uma vez que os padrões utilizados foram de grau analítico PA, de boa procedência.

A caracterização de sacarose e frutose por faixas em todo o espectro de MID e de glucose pela faixa de 400 – 1500 cm^{-1} foi observada também por Duarte et al., (2002), Costa Filho, Poppi (2002) e Barbosa (2007).

Para a predição, os espectros de FTIR de cada amostra, com 7469 pontos, foram usados como variável independente e os valores de concentração de cada açúcar padrão, variável dependente. Os valores obtidos desta quantificação por predição estão apresentados na tabela 12.

Tabela 12 - Dados obtidos por predição em FTIR dos modelos obtidos dos padrões de frutose, glucose e sacarose

	Frutose (%)	Glucose (%)	Sacarose (%)
Catarina	57,00	19,70	23,29
Joaquina	55,58	21,14	23,27
Fuji	52,39	22,58	25,03
Gala	59,55	26,44	22,90

A frutose, novamente, apresenta maior teor, com glucose e sacarose alternando em segundo lugar. Tal resultado está condizente à proporção dos açúcares em cada variedade, obtidos por Queji, (2008), uma vez que sua amostra foi o bagaço das maçãs e seus resultados expressos em peso.

5.3.3 Correlação por Análise Multivariada

Foram construídos modelos de calibração, através de PLS, com os espectros do adoçante de maçã obtidos por FTIR (matriz de 7469x4) das quatro variedades estudadas (Gala, Fuji, Catarina e Joaquina), e com as concentrações dos açúcares (3x3) determinadas por integração, por RMN.

Os modelos, para cada açúcar, estão apresentados nas Figuras 26A, 27A e 28A, bem como os gráficos de correlação (Figuras 26B, 27B e 28B) que mostram as faixas significativas de cada espectro.

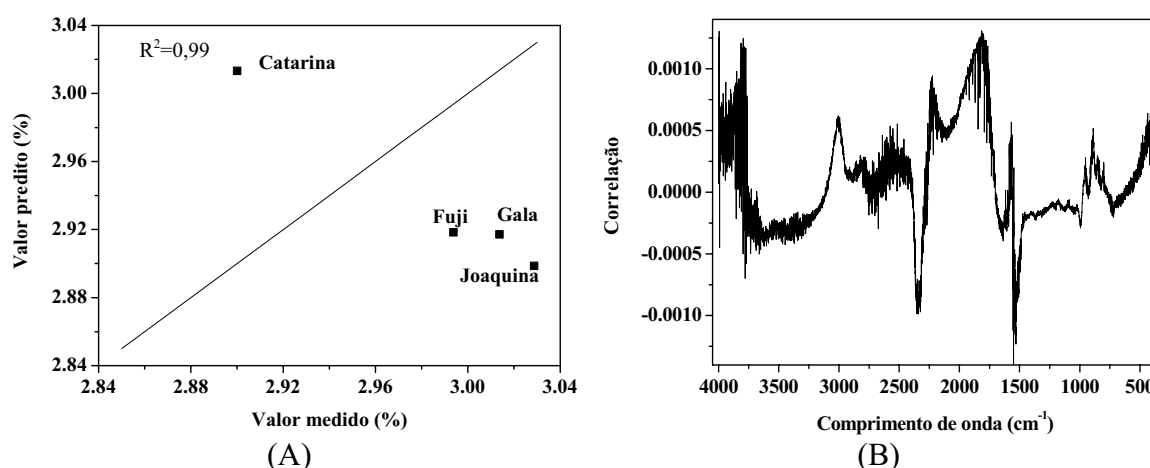


Figura 26 – Análise multivariada dos resultados instrumentais. (A) Relação obtida por PLS entre os valores medidos x preditos para a sacarose, determinada por FTIR (MID) e RMN (B) Magnitude dos coeficientes obtida pela faixa significativa do pls entre FTIR (MID) e RMN, para a sacarose

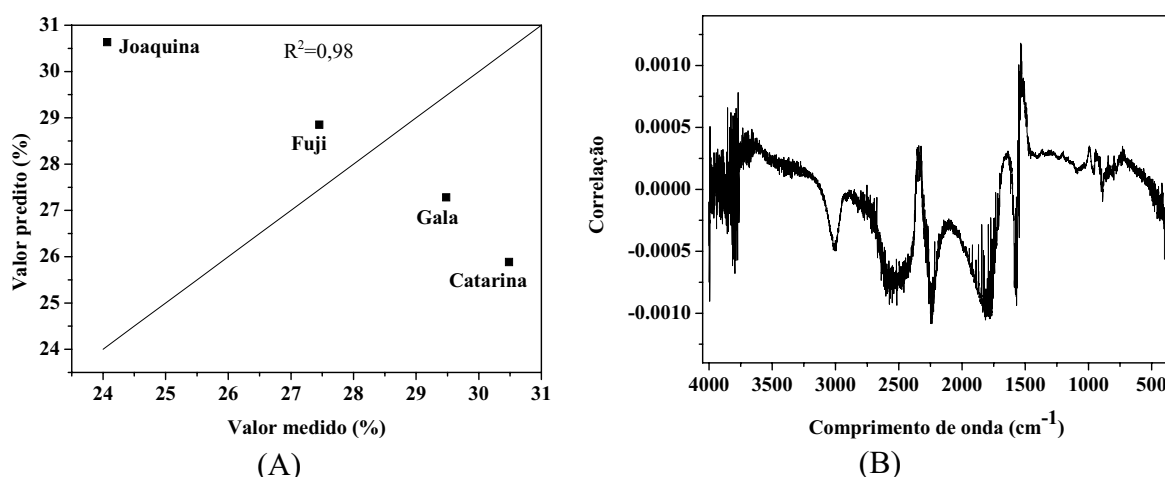


Figura 27 – Análise multivariada dos resultados instrumentais. (A) Relação obtida por PLS entre os valores medidos x preditos para a glucose, determinada por FTIR (MID) e RMN (B) Magnitude dos coeficientes obtida pela faixa significativa do pls entre FTIR (MID) e RMN, para a glucose

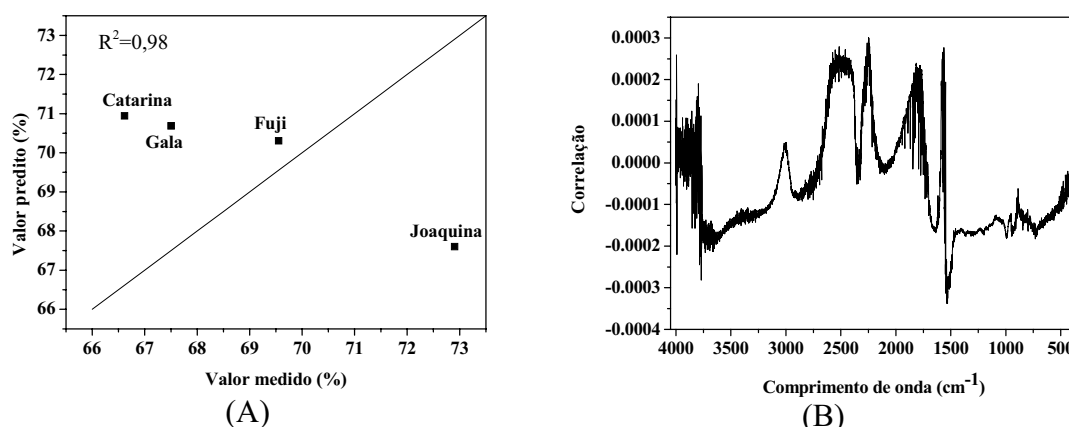


Figura 28 – Análise multivariada dos resultados instrumentais. (A) Relação obtida por PLS entre os valores medidos x preditos para a glucose, determinada por FTIR (MID) e RMN. (B) Magnitude dos coeficientes obtida pela faixa significativa do PLS entre FTIR (MID) e RMN, para a frutose

A correlação obtida entre os dados qualitativos de RMN e os espectros de FTIR foi elevada, sendo o R_{val} para a sacarose de 0,99 e o R_{cal} de 0,99. Para a glucose o R_{val} foi de 0,98 e o R_{cal} , 0,98. A frutose obteve R_{val} de 0,98 e R_{cal} de 0,98. Para nenhum dos três padrões, sacarose, glucose e frutose, foi necessário excluir regiões dos espectros, como representado nas Figuras 26B, 27B e 28B respectivamente, uma vez que utilizando este recurso os valores de correlação diminuiriam.

Apesar da elevada correlação obtida entre os dados de RMN e FTIR (MID) observou-se que os teores de sacarose determinados por FTIR foram maiores que os obtidos por RMN e os teores de glucose, menores. Este fato demonstra que a técnica de FTIR não foi adequada à amostra devido à sobreposição de picos, como observado por outros autores. A determinação por FTIR de sacarose, glucose e frutose em bagaço de maçã foi realizada por Queji (2008) com bons resultados, porém sem possibilidade de comparação uma vez que esta utilizou NIR (Infravermelho Próximo) como técnica e bagaço de maçã seco como amostra.

Com os resultados obtidos para as quatro variedades por RMN e FTIR, optou-se por dar continuidade ao trabalho apenas com a variedade Gala por apresentar maior disponibilidade no mercado, devido a grande quantidade necessária para a análise sensorial e por ser a qual apresenta maior teor em frutose, responsável pelo dulçor desejável.

5.4 CARACTERIZAÇÃO SENSORIAL DO ADOÇANTE DE MAÇÃ

Este tópico apresenta os resultados obtidos em cada etapa da Análise Sensorial, iniciando com a determinação da concentração ideal de sacarose, para comparar o dulçor do adoçante de maçã a este valor. Em seguida estão apresentados os resultados da seleção e treinamento dos candidatos a provadores bem como da estimativa da magnitude, a fim de obter o poder edulcorante do adoçante de maçã e sua concentração referente à ideal de sacarose. Como forma de caracterizar o adoçante através da análise descritiva quantitativa (ADQ), apresenta-se o levantamento dos atributos, o treinamento da equipe para esta análise e a análise da amostra. Por fim o resultado obtido coma análise da aceitação do adoçante.

5.4.1 Concentração ideal de sacarose

As respostas dos provadores, obtidas a partir do teste com a escala do ideal, foram analisadas através da frequência das respostas dispostas em histogramas, conforme descrito por Meilgaard et al. (1991). Assim, foi determinado como doçura ideal, solução de sacarose a 7,50 % (p/v)(Figura 29).

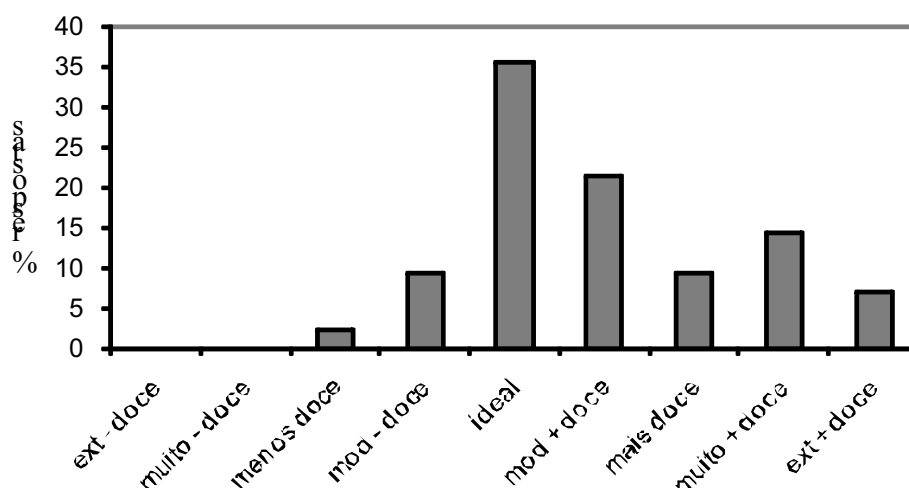


Figura 29 – Histograma das frequências de respostas para a solução de 7,50% de sacarose

5.4.2 Pré-seleção da equipe de julgadores

Para o teste de odores e gostos básicos, 12, dos 18 provadores iniciais, foram aceitos.

Em seguida, com 12 Testes Triangulares foram selecionados 8, dos 12 provadores. Este teste permitiu obter a aceitação ou rejeição de cada provador pelo método da Análise Seqüencial de Wald.

5.4.3 Equivalência de Doçura

Os oito provadores selecionados avaliaram o poder edulcorante do adoçante de maçã, tendo como amostra referência solução de sacarose a 7,50%.

A partir dos dados obtidos pelo método de estimação da magnitude foram determinados os parâmetros “a” e “n” da função $S=aC^n$ (Tabela 13).

Tabela 13 - Resultados do teste de estimação de magnitude para determinar a equivalência de doçura do adoçante de maçã em relação à sacarose a 7,50%

Edulcorantes	Função de potência	n	a	R ²
Sacarose	$S = 0.627 \times C^{2,52}$	2,52	0,203	0,97
Adoçante de maçã	$S = 3,123 \times C^{1,59}$	1,59	0,494	0,96

Na equação obtida para a sacarose, foi substituído no valor de C, 7,50%, que é a doçura que se desejava determinar. Deste modo, foi obtido matematicamente o valor de S, ou seja, a sensação de doçura percebida sensorialmente para a sacarose. O valor de S obtido para a sacarose foi então substituído na equação do adoçante e assim foi determinada a concentração do adoçante de maçã sendo de 8,86%, em equivalência à solução de sacarose a 7,5%. Este valor corresponde ao adoçante na concentração obtida durante o processo de extração, 73,50° Brix, representando a quantidade de 6,51 % em açúcares, e o poder edulcorante do adoçante de maçã, passa a ser de 1,15, ou seja, $P_{ed} = 100 \times (7,50 \% / 6,51 \%)$.

O poder edulcorante do adoçante de maçã foi maior que da sacarose, embora a sensação percebida tenha sido menor, uma vez o adoçante foi avaliado sob a forma de concentrado com o título de 0,7350 (73,50°Brix). Esta característica tinha sido destacada pelos provadores desde o início dos testes, ressaltando que percebiam uma combinação harmoniosa de gostos além do sabor doce, como aroma frutado e leve acidez. Tais propriedades características da fruta foram combinadas e destacadas no adoçante, permitindo um elevado sabor doce, porém levemente sobreposto pelas outras características.

Trabalho semelhante foi realizado com chá mate, avaliando a influencia da temperatura em diferentes edulcorantes (CARDOSO, BATTOCHIO, CARDELLO, 2004), comprovando a influencia do produto na percepção do sabor doce, o estudo obteve 8,30 % como concentração ideal de sacarose, em chá. A quantidade de adoçante de maçã necessária para produzir a mesma doçura obtida com sacarose 7,50 % não pode ser comparada à obtida no trabalho citado, uma vez que aquele utiliza edulcorantes comerciais e o adoçante de maçã se constitui em uma estrutura mais complexa, obtida de fruta, e com características além do sabor doce.

5.4.4 Termos Descritivos e Treinamento dos Provadores

No treinamento de ADQ aplicado aos provadores, foram utilizados dois tratamentos com três repetições cada, para cada atributo, para avaliá-los quanto à capacidade de diferenciação e reprodutibilidade (Tabela 14).

Tabela 14 - Níveis de probabilidade de amostras e provadores para os atributos sensoriais do adoçante de maçã – Treinamento

(continua)

Atributo		Fator de variação	Probabilidade
Doçura inicial	Tratamento A	Repetição	0,43
		Provador	0,40
	Tratamento B	Repetição	0,11
		Provador	0,58
Doçura residual	Tratamento A	Repetição	0,28
		Provador	0,56
	Tratamento B	Repetição	0,91
		Provador	0,32
Acidez	Tratamento A	Repetição	0,21
		Provador	0,18
	Tratamento B	Repetição	0,90
		Provador	0,12
Adstringência	Tratamento A	Repetição	0,69
		Provador	0,83
	Tratamento B	Repetição	0,47
		Provador	0,14
Aroma	Tratamento A	Repetição	0,58
		Provador	0,62
	Tratamento B	Repetição	0,42
		Provador	0,74
Cor amarelada	Tratamento A	Repetição	0,46
		Provador	0,15
	Tratamento B	Repetição	0,70
		Provador	0,37

Tabela 14 – Níveis de probabilidade de amostras e provadores para os atributos sensoriais do adoçante de maçã – Treinamento

(conclusão)

Turbidez	Tratamento A	Repetição	0,23
		Provador	0,77
	Tratamento B	Repetição	0,34
		Provador	0,35

Para todos os atributos os F_{provador} e $F_{\text{repetição}}$ foram não significativos com $p > 0,05$, demonstrando que a equipe percebeu a semelhança entre as repetições de cada tratamento e apresentou consenso nas respostas, ou seja, todos os provadores foram bem treinados.

5.4.5 Avaliação da amostra

Em seguida os julgadores, provadores treinados, avaliaram a amostra obtendo os resultados apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 - Médias e níveis de probabilidade de repetições e julgadores para os atributos sensoriais do adoçante de maçã

Atributo	Fator de variação	Probabilidade	Médias
Doçura inicial	Repetição	0,90	$3,42 \pm 16 \times 10^{-3}$
	Julgador	0,16	
Doçura residual	Repetição	0,82	$2,19 \pm 18 \times 10^{-3}$
	Julgador	0,23	
Acidez	Repetição	0,55	$1,46 \pm 32 \times 10^{-3}$
	Julgador	0,14	
Adstringência	Repetição	0,64	$1,20 \pm 27 \times 10^{-3}$
	Julgador	0,67	
Aroma	Repetição	0,84	$2,42 \pm 20 \times 10^{-3}$
	Julgador	0,15	
Cor amarelada	Repetição	0,72	$2,00 \pm 20 \times 10^{-3}$
	Julgador	0,27	
Turbidez	Repetição	0,64	$1,45 \pm 27 \times 10^{-3}$
	Julgador	0,55	

Para a análise dos resultados os parâmetros analisados foram apenas repetição e julgador, uma vez que a amostra é única, adoçante de maçã Gala.

Para todos os atributos, tanto o F_{julgador} quanto o $F_{\text{repetição}}$ foram não significativos, com $p > 0,05$, indicando que a equipe não apresentou diferença nas respostas, obtendo consenso e que cada provador exibiu boa reprodutibilidade, com respostas semelhantes para as repetições.

O perfil sensorial do adoçante de maçã é apresentado na Figura 30, pelo gráfico Radar. A média de cada atributo está marcada no eixo correspondente, traçando assim o perfil pela união dos pontos. Cada atributo apresenta eixo de 9 cm, representando os extremos de percepção definidos no treinamento para ADQ. Quanto mais distante do centro, em direção a extremidade do eixo, maior a intensidade do atributo.

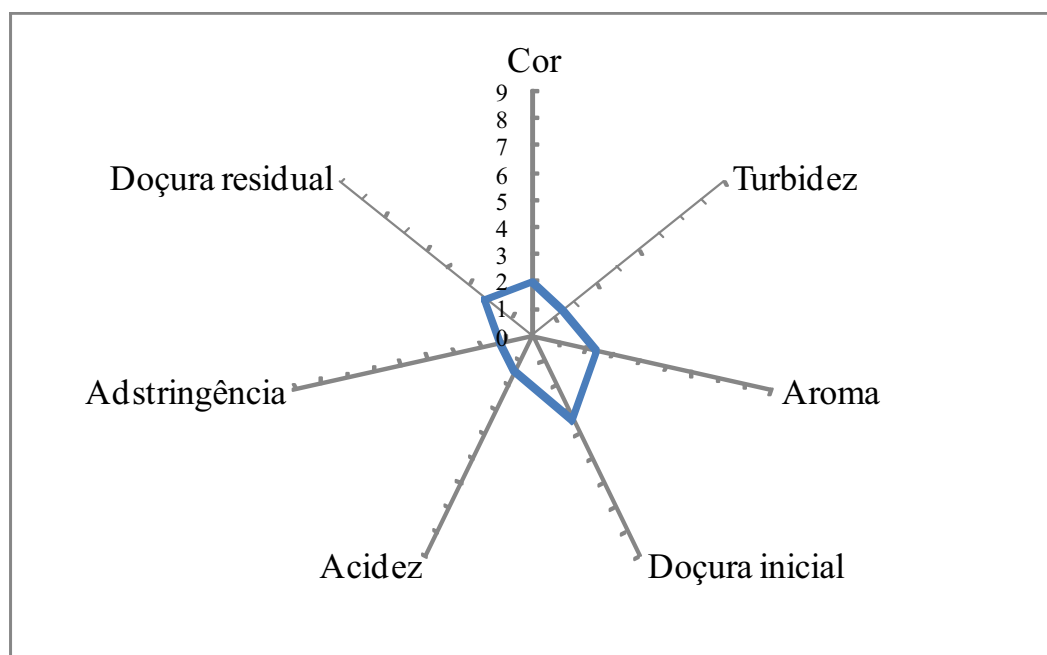


Figura 30 – Perfil sensorial, representando a média dos atributos do adoçante de maçã

Os atributos doçura inicial, aroma e doçura residual receberam as maiores notas, com destaque para o primeiro.

Os atributos de dulçor, sendo um adoçante, já eram esperados, porém o aroma de maçã apresentou valor maior que a doçura residual, conferindo ao adoçante de maçã características peculiares, não encontradas em nenhum outro produto de tal categoria. A acidez e a adstringência percebidas, atributos que caracterizam o fruto da macieira, reforçam a peculiaridade do produto.

O atributo doçura inicial apresenta valor relativamente baixo quando comparado ao obtido para a sacarose em concentração semelhante (10%), em trabalho realizado por Cardello, Da Silva e Damásio (2000). Tal fato já era previsto, sendo que o poder edulcorante do adoçante de maçã é de 1,15 em relação à sacarose.

Os atributos peculiares do adoçante podem ser a causa da variação nos resultados, como observado por Tunaley, Thomson e McEwan (1987). Segundo os quais, quanto mais complexa a percepção, maior a possibilidade de variação nos resultados.

O adoçante de maçã pode ser caracterizado como “equilibrado”, com as médias de todos os atributos variando de 1,20 a 3,42. Apresenta como atributo principal a doçura inicial, porém todos os atributos contribuem para seu sabor particular.

5.4.6 Aceitação

Em relação à aceitação, o valor médio de 5,30 classifica o Adoçante de Maçã, na escala hedônica de 7 pontos, entre “gostei” e “gostei muito”. Este dado reflete uma boa aceitação (75,70 %) do Adoçante perante os consumidores, uma vez que este teste foi realizado com provadores não treinados.

Como critério de qualidade do adoçante, uma etapa de descoloração proporciona maior valor ao produto. Alguns estudos por adsorção através da associação entre resinas e

carvão ativado foram realizados, porém com resultados não significativos, assim, a determinação da proporção resina:carvão adequada, do tempo, da forma de aplicação, são de relevância para aumentar a qualidade do produto e, após definição dos parâmetros, possibilitar a apresentação à representantes da agroindústria de maçã.

O aroma, característica destacada na análise sensorial, pode ser estudado no sentido de isolamento, concentração e possível aplicação como aromatizante.

6 CONCLUSÕES

A secagem 90°C (até final da fase latente) e 52,50°C, até o final do processo foi o melhor procedimento, com umidade de equilíbrio que não permite crescimento microbiano e proporção ternária de sac : fru : glu de 1 : 2,23 : 0,76;

O processo de obtenção do adoçante apresentou um rendimento quantitativo de 42,40 %, proporção ternária determinada enzimaticamente de sac : fru : glu de 1 : 16,42 : 5,76 e estabilidade microbiológica segundo legislação vigente;

A caracterização realizada por RMN e FTIR (MID) foi analisada por PLS, resultando em boa correlação entre os dados, com valores de 0,99 para a sacarose, 0,98 para glucose e 0,98 para frutose, e assegurando a quantificação obtida. Através das duas técnicas foi observada ausência de contaminantes açucarados, fenólicos e ácidos.

Em relação ao dulçor, o adoçante natural de maçã Gala apresenta poder edulcorante de 1,15 em relação à sacarose e sensorialmente pode ser caracterizado por sete atributos, sendo que os mais significativos foram doçura inicial e aroma de maçã;

A aceitação do adoçante natural foi boa (75,70 %), perante provadores não treinados, com classificação entre “gostei” e “gostei muito”.

Com características sensoriais peculiares à categoria, além de boa aceitação, o adoçante de maçã, caracterizado instrumentalmente com elevada correlação e estável do ponto de vista microbiológico, apresenta-se como alternativa de aproveitamento de resíduos com inúmeras aplicações, como barras de cereais, sorvetes, sobremesas, produtos panificados, doces, bebidas saborizadas.

REFERÊNCIAS

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Métodos de Análise Sensorial dos Alimentos e Bebidas, NBR 12.994, p. 2, 1993.

ALMEIDA, M. A. **A resina de troca iônica como extrator multielementar em análise de solo para fins de fertilidade.** 1999, 121f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2000.

ALMEIDA V. de C. **Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação e extração de corantes têxteis em efluentes industriais.** 2006, 109f. Tese (Doutorado em Ciências Exatas). Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, 2006.

ALONSO-SALCES, R. M.; KORTA, E.; BARRANCO, A.; BERRUETA, L. A.; GALLO, B.; VICENTE, F. Determination of polyphenolic profiles of Basque cider apple varieties using accelerated solvent extraction. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, n. 8, p. 3761-3767, 2001

AMERICAN SUGAR BEET GROWERS ASSOCIATION. 1998. Disponível em:<<http://members.aol.com/asga/sugarbeet.htm>>. Acesso em: 24 jun. 2007.

ANZFA. THE AUSTRALIA NEW ZEALAND FOOD AUTHORITY. Inquiry Report and Regulatory Impact Statement, Permission for Use of Neotame. p.9, 30 de Maio, 2001.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the AOAC International.** 16 ed. Arlington, USA, 1995.

AULER, L. M. L. de A. **Desenvolvimento de uma Nova Fase Estacionária para Cromatografia por Troca Aniônica.** 2006, 135 f. Tese (Doutorado em Química Analítica). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2006.

BAJIPAI, P.; MARGARITIS, A. Production of high fructose syrup from Jerusalem artichole tubers using *Kluyveromyces marxianus* cells immobilized in agar gel. **The Journal of General and Applied Microbiology**, v. 31, n. 4, p. 305-311, 1995.

BANNWART, G. C. M. de C.; BOLINI, H. M. A.; TOLEDO, M. C. de F.; KOHN, A. P. C.; CANTANHEDE, G. C. Evaluation of Brazilian light ketchups II: quantitative descriptive and physicochemical analysis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 107-115, Campinas, 2008.

BARBOSA, L. C. de A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos.** Viçosa, UFV (Universidade Federal de Viçosa), p. 189, 2007.

BARROS, A.S.; SAFAR, M.; DEVAUX, M.F.; BERTRAND, D.; RUTLEDGE, D.N. Relations between mid-infrared and near-infrared spectra detected by analysis of variance of an intervariable data matrix. **Applied Spectroscopy**, v. 51, n. 9, p. 1384–1393, 1997.

BDH Chemical Ltd. **Íon exchange resins.** 6 ed, Poole, Londres, nov.1981.

BEEBE, K. R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B. **Chemometrics: a practical guide**. New York: John Wiley & Sons, 1998, 348p.

BELTER, P. A.; CUSSLER, E. L.; HU, W. S. **Bioseparations – Downstream Processing for biotechnology**, New York: John Wiley & Sons, 1998.

BELTON, P. S.; DELGADILLO, I.; HOLMES, E.; NICHOLLS, A.; NICHOLSON, J. K.; SPRAUL, M. Use of high-field NMR spectroscopy for the analysis of liquid foods. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 66, n. 44, p. 1483- 1487, 1996.

BELTON, P. S.; DELGADILLO, I.; GIL, A. M.; CASUSCELLI, F.; COLQUHOUN, I. J.; DENNIS, M. J.; SPRAUL, M. High-field proton NMR studies of apple juices. **Magnetic Resonance Chemistry**, n. 35, S52-S60, 1997.

BELTON, P. S.; COLQUHOUN, I. J.; KEMSLEY, E. K.; DELGADILLO, I.; ROMA, P.; DENNIS, M. J.; SHARMAN, M.; HOLMES, E.; NICHOLSON, J. K.; SPRAUL, M. Application of chemometrics to the ¹H NMR spectra of apple juices: Discrimination between apple varieties. **Food Chemistry**, n. 61, p. 207-213, 1998.

BENÍCIO, V.; ARAÚJO, E.; SOUTO, F. M.; BENICIO, M. J.; FELISMINO, D. C. Identificação e características culturais de espécies do gênero *Aspergillus* isoladas de sementes de feijão no Estado da Paraíba. **Fitopatologia brasileira**, v.28, n.2, Brasília, Mar./Apr. 2003.

BERGMEYER, H. U.; BERNT, E. Determination of glucose with glucose oxidase and peroxidase. In: BERGMEYER, H. U. **Methods of enzymatic analysis**. New York: Verlag Chemie-Academic Press, 1974. p. 1205-1215.

BERREGI, I.; SANTOS, J. I.; DEL CAMPO, G.; MIRAND, J. I.; AIZPURU, J. M. Quantitation determination of chlorogenic acid in cider apple juices by ¹H NMR spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 486, n. 2, p. 269-274, 2003.

BLANCHARD, P. H.; GEIGER, E. O. Production of high fructose corn syrup in the USA. **Sugar Technology Reviews**, v. 11, p. 1-94, 1984.

BLANCO-GOMIS, D.; HERRERO-SA'NCHEZ, I.; MANGAS, J. J. Characterisation of apple cider cultivars by chemometric techniques using data from high-performance liquid chromatography and flow-injection analysis. **Analyst**, n. 123, p. 1187-1191, 1998.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F.O. **Química de Processamento de Alimentos**. São Paulo: Varela, p. 39-50, 1992.

BOEHRINGER, M. In Roche Diagnostics, Enzymatic bioanalysis and food analysis. Mannheim, p. 42–43, 2000.

BOGETOFT, P.; BOYE, K.; NEERGAARD-PETERSEN, H.; NIELSEN, K. 'Reallocating sugar beet contracts: can sugar production survive in Denmark?'. **European Review of Agricultural Economics**. Oxford, v.34, n.1, p.1-20, 2007.

BORGES, M.T.M.R.; PARAZZI, C.; PIEDADE, S.M.D.S. Avaliação de Métodos Químicos de Determinação de Açúcares Redutores em Xaropes. **Anais do 4º. Congresso Nacional da STAB. VIII Convenção da ACTALAC**, Olinda, Pe, Brasil, 8-13 novembro de 1987.

BORIN, A.; POPPI, R. J. Multivariate quality control of lubricating oils using Fourier transform infrared Spectroscopy. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 4, p. 570-576, 2004.

BASTONI, L.; BIANCO, A.; PICCIONI, F.; UCCELLA, N. Biophenolic profile in olives by nuclear magnetic resonance. **Food Chemistry**, n. 73, p. 145-151, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001.

BRENNAN, J. G.; BUTTERS, J. R.; COWELL, N. D.; LILLEY, A. E. V. **Food Engineering Operations**. 3 ed. Londres: Elsevier Applied Science, 1990. p.532.

BRESCIA, M. A.; CALDAROLA, V.; DE GIGLIO, A.; BENEDETTI, D.; FANIZZI, F. P.; SACCO, A. Characterization of the geographical origin of Italian red wines based on traditional and nuclear magnetic resonance spectrometric determinations. **Analitical Chemistry Acta**. n. 458, p. 177-186, 2002.

BRITISH SUGAR COMPANY. 2007. Disponível em:< [http:// www.britishsugar.co.uk](http://www.britishsugar.co.uk) >. Acesso em: 18 jul. 2007.

BRUNS, R. E.; FAIGLE, J. F. G. Quimiometria. **Química Nova**, v. 8, n. 2, p. 84-99, 1985.

CAMELO, A.F.L.; GOMEZ, P.A. Comparison of color indexes for tomato ripening. **Horticultura brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 534-537, 2004.

CARDELLO, H. M. A. B.; DA SILVA, M. A. A. P.; DAMÁSIO M. H. Análise descritiva quantitativa de edulcorantes em diferentes concentrações. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 20, n. 3, p. 318-328, set/dez. 2000.

CARDOSO, D. R.; ANDRADE-SOBRINHO, L. G.; LEITE-NETO, A. F.; RECHE, R. V.; ISIQUE, W. D.; FERREIRA, M. M. C.; LIMA-NETO, B. S.; FRANCO, D. W. Comparison between cachaça and rum using pattern recognition methods. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3429-3433, 2004.

CATALDI, T. R. I.; CAMPA, C.; ANGELOTTI, M.; BUFO, S. A. **Journal of Chromatography**, v. 2, n.855, p. 539-550, 1999.

CATALDI, T. R. I.; MARGIOTTA, G.; IASI, L.; DI CHIO, B.; XILOYANNIS, C.; BUFO, S. A. Determination of Sugar Compounds in Olive Plant Extracts by Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection. **Analitical Chemistry**, v. 72, n. 16, p. 3902-3907, 2000.

CALVO M. Edulcorantes no calóricos. **Bioquímica de los alimentos**. Zaragoza, 1991.

CHARLTON, A. J.; FARRINGTON, W. H. H.; BRERETON, P. Application of ^1H NMR and multivariate statistics for screening complex mixtures: Quality control and authenticity of instant coffee. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, n. 11, p. 3098-3103, 2002.

CHEMELLO, E. “Açúcar é proveniente só de cana?” Revista Eletrônica ZOOM – Cia da Escola, 2005. Disponível em: <<http://www.ciadaescola.com.br/zoom/materia.asp?materia=249>>. Acesso em: 27 jun. 2007.

CHING, C.B.; RUTHVEN, D.M. A liquid phase chromatographic study of sorption and diffusion of glucose and fructose in NaX and KX zeolite crystals. **Zeolites**, n. 8, p. 68–73, 1988.

CHO, S. I. AND KRUTZ, G. W. Fruit ripeness detection by using ^1H -NMR. **Proceedings of the ASAE meeting**, n. 89, p. 6620, 1989, St Joseph, Miami.

CHO, S. I., STROSHINE, R. L., BAIANU, I. C. AND KRUTZ, G. W. Nondestructive sugar content measurements of intact fruit using spin-spin relaxation time (T_2) measurements by pulsed ^1H magnetic resonance. **Transactions of the ASAE**, v. 36, n. 4, p. 1217 – 1221, 1993.

CLARIDGE, T. D. W. **High-resolution NMR techniques in organic chemistry**. Amsterdam: Elsevier, 1999. p. 80-120.

CLARKE, R. J. Instant coffee technology. In:_. **Food Technology International Europe**. Londres: Sterling Publications International. 1990. p. 137 – 139.

COCCHI, M. et al. Use of multivariate analysis of MIR spectra to study bread staling. **Annali di Chimica**, v. 95, n. 9-10, p. 657-666, 2005.

COELHO, L. M. **Potencial da farinha de bagaço de maçã no tratamento dietoterápico de pessoas idosas**. 2007, 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, 2007.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a Métodos Cromatográficos**. Campinas: Ed. Unicamp. 1993. p 71-93.

COLLINS, C. H., BRAGA, G. L., BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**, Campinas, Editora Unicamp, 2006, 453p.

COLQUHOUN, I. J. High-resolution NMR spectroscopy in food analysis and authentication. **Spectroscopy Europe**, v. 10, n. 1, p. 8-18, 1998.

COOK, E. M.; DUMONT, H. D. **Process drying practice**. New York: Mc Graw-Hill, 1991.

COOPERCITRUS INFORMATIVO AGROPECUÁRIO. **A responsabilidade do setor agrícola na preservação da água**. Ano XIV – n.164, jun 2000.

COOPERSUCAR, 2001. Disponível em:<<http://www.copersucar.com.br/>>. Acesso em: 06 set 2007.

Corn Refiners Association, 2002. Disponível em:< <http://www.corn.org/> >. Acesso em: 06 set. 2007.

COSTA FILHO, P. A.; POPPI, R. J. Aplicação de algoritmos genéticos na seleção de variáveis em espectroscopia no infravermelho médio. Determinação simultânea de glucose, maltose e frutose. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 46 – 52, 2002.

COTRIM, A. R. et al. Identifying the origin of lignins and monitoring their structural changes by means of FTIR-PCA -andSIMCA. **Bioresource Technology**, v. 68, n. 1, p. 29-34, 1999.

COUMANS, W. J.; KRUF, W. M. A. Transport parameters and shrinkage in paper drying. Drying' 94. **Proceedings of the 9th International Drying symposium (IDS'94)**, ed. V. Rudolph e R. B. Keey, Hemisphere Publ., p. 1205-1212, 1994.

CRUZ, J. M. **Adsorção de insulina em resina trocadora de íon utilizando leitos fixos e fluidizados**. 1997, 141 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 1997.

DABEK - ZLOTORZYNSKA, E., DLOUHY, J. F. **Journal of Chromatography**, v. 640, p. 217, 1993.

DAMASIO, M. H.; COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**: Valencia, v. 31, n. 2, p. 165-178. 1991.

DA SILVA, M. A. A. P.; SAMPAIO, K. L.; BERTOLINI, A. C. CG-Olfatometria (CGO): uma revisão. In: FRANCO, M. R. B. **Aroma e sabor de alimentos: temas atuais**. São Paulo: Livraria Varela, 2003. p. 29-46.

DE ALMEIDA, A. M. **A resina de troca iônica como extrator multielementar em análises de solos para fins de fertilidade**. 2001, 121 f.Dissertação (Mestrado em fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas). Universidade Estadual de Campinas,Campinas, SãoPaulo, 2001.

DENG, S. P.; TABATABAI, M. A. Colorimetric determination of reducing sugar in soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v.26, n. 4, p. 473-477, 1994.

DONER, L. W. The sugars of honey - A review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Philadelphia, v.28, n.5, p. 443-456, maio 2006.

DORFNER, K. **Íon Exchangers**. Nova Iorque: Walter de Gruyler, 1991, p. 397-442.

DOWNING D.L. **Processed Apple Products**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989, capítulo 15.

DUARTE, A. ;BARROS, P.S. ; BELTON, R. ; RIGHELATO, M. ; SPRAUL, E.; HUMPFER, A.M.; GIL, A. High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and Multivariate Analysis for the Characterization of Beer. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, n. 50, p. 2475, 2002.

EADS, T. M.; BRYANT, R. G. High-resolution proton NMR spectroscopy of milk, orange juice, and apple juice with efficient suppression of the water peak. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. n. 34, n. 5, p. 834-837, 1986.

EADS, T. M.; NI, Q. W. Liquid-phase composition of intact fruit tissue measured by high-resolution proton NMR. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**., v. 7, n. 41, p. 1026 – 1034, 1993.

EBERHARDT, M. V.; LEE, C. Y.; LIU, R. H. Antioxidant activity of fresh apples. **Nature**. v. 405, n. 6789, p. 903–904, 2000.

ENDREß, H.U. High quality resulting from product integrated environment protection-PIUS. **Fruit Processing** v. 10, p. 273–276, 2000.

ETIÉVANT, P.; SCHLICH, P. Varietal and geographic classification of French red wines in terms of major acids. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 46, p. 421-438, 1989.

FARIA, E. V. DE; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de Análise Sensorial**. Campinas: ITAL/LAFISE, 2002, 116p.

FAUHL, C.; RENIERO, F.; GUILLOU, C. ¹H NMR as a tool for the analysis of mixtures of virgin olive with oils of different botanical origin. **Magnetic Resonance Chemistry**, n. 38, p. 436-443, 2000.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos - Princípios e Prática**. Tradução Flôrencia Cladera Olivera...[*et al.*] 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.

FERLIN, P. Le séchage dans les industries:Théorie du séchage. Choix et dimensionnement d'un séchoir. **Polycopié de l'Option Gene Chimique et Agro-Alimentaire**. ECOLE CENTRALE DE PARIS, 1998.

FERREIRA, V. L.; ALMEIDA, T. C. A.; PETTINELLI, M. L. C. V.; DA SILVA, M. A. A. P.; CHAVES, J. B. P.; BARBOSA, E. M. M. Testes afetivos. In: **Análise Sensorial Testes Discriminativos e Afetivos**. 1^a. ed., Campinas: Profiqua, 2000, p. 54-71.

FOOT, M.; MULHOLLAND, M. Classification of chondroitin sulfate A, chondroitin sulfate C, glucosamine hydrochloride and glucosamine 6 sulfate using chernometric techniques. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 38, n. 3, p.397-407, 2005.

FOUST, A. S.; WENZEL, L. A.; CLUMP, C. W.; MAUS, L.; ANDERSEN, L. B. **Princípios das Operações Unitárias**. 2.ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e científicos Editora S.A, 1982. 670 p.

FRAGAKI, G.; SPYROS, A.; SIRAGAKIS, G.; SALIVARAS, E.; DAIS, P. Detection of extra virgin olive oil adulteration with lampante olive oil and refined olive oil using nuclear magnetic resonance spectroscopy and multivariate statistical analysis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, n. 53, n. 8, p. 2810-2816, 2005.

FRANCO, B. D. G. de M. **Microbiologia dos Alimentos**. 1. ed. Rio de Janeiro: Editora Atheneu, 1996, 196 p.

FULEKI, T.; PELAYO, E.; PALABAY, R. Sugar composition of varietal juices produced from fresh and stored apples. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 66, n. 42, p. 1266-1275, 1994.

FULEKI, T.; PELAYO, E.; PALABAY, R. Carboxilic acid composition of varietal juices produced from fresh and stored apples. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 43, n. 3, p. 598-607, 1995.

GARDNER, D. S. **Industrial scale hop extraction with liquid CO₂**. 12 ed. Londres: Chem. Ind. p. 402-405.

GEANKOPLIS, C. J. **Transport process and unit operations**. 3. ed, PTR Prentice Hall, USA, 1993.

GIL, A. M.; DUARTE, I. F.; DELGADILLO, I.; COLQUHOUN, I. J.; CASUSCELLI, F.; HUMPFER, E.; SPRAUL, M. Study of the compositional changes of mango during ripening by use of nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, n. 48, p. 1524-1536, 2000.

GIL, V. M. S.; GERALDES, C. F. G. C. **Ressonância Magnética Nuclear: fundamentos, métodos e aplicações**. Lisboa: Fundação Calouste, 1987. p. 3-4.

GLAZER, N.; NIKAIDO, H. **Microbial Biotechnology: Fundamentals of Applied Microbiology**. 2 ed., Nova Iorque, W. H. Freeman and Company, 1995.

GRASSIN, C.; FAUQUEMBERGUE, P. Apple pomace liquefaction: a new technology. **Fruit Processing**, Oberhonnerfeld, v. 12, p. 490-495, 1996.

GRATÃO, A. C. A.; BERTO, M. I.; SILVEIRA JÚNIOR V. Reologia do açúcar invertido: influência da temperatura na viscosidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 652-656, out./dez. 2004.

GUTIERREZ-MICELI, F. A.; ARIAS-CASTRO, C.; DENDOOVEN, L.; MENDEZ-SALAS, R.; RODRIGUEZ-MENDIOLA, M. A.; OCHOA-ALEJO, N.; BELLO-PEREZ, L. A. Regulación enzimática de La acumulación de sacarosa em plantas de cana de azucar (*Saccharum ssp*). **Agrociencia**, v. 36, p. 411-419, 2002.

HALL, D.L. Mathematical Techniques in Multisensor Data Fusion, **Artech House, Bristol, UK**, 1992.

HANOVER, L. M.; WHITE, J. S. Manufacturing, composition, and applications of fructose. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 58, n. 5, p. 724-732, 1993.

HASHIMOTO, K.; ADACHI, S.; NOUJIMA, H.; MARUYAMA, H. Models for the separation of glucose/fructose mixture using a simulate moving-bed adsorber. **Journal of Chemical Engineering of Japan**, n. 16, n. 5, p. 400-406, 1983.

HILLS, B. P.; CLARK, C. J. Quality assessment of horticultural products by NMR. **Annual Reports on NMR Spectroscopy**, p. 75-120. 2003.

HOPKE, P. K. The evolution of chemometrics. **Analytica Chimica Acta**, v. 500, n. 1-2, p. 365-377, 2003.

HOLLER, F. J.; NIEMAN, T.; SKOOG, D. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5.ed. Bookman Editora, 2002. 838p.

HORSTMANN, B. J.; CHASE, H. A. Modelling the Affinity Adsorption of Immunoglobulin G to protein A Immobilised to Agarose Matrices, **Chemical Engineering Development**, v. 67, n. 3, p. 243-254, 1989.

HWANG, J. K.; KIM, C.J.; KIM, C.T. Extrusion of apple pomace to facilitates pectin extraction. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 5, p. 841–844, 1998.

INSTITUTO. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. Brasília: Anvisa, 2005.

INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO AGROINDUSTRIAL. **Indicadores de desempenho da agroindústria canavieira – safra 97/98**. Ribeirão Preto. IDEA, 1998.

IRUDAYARAJ, J.; TEWARI, J. Simultaneous monitoring of organic acids and sugars in fresh and processed apple juice by Fourier transform infrared-attenuated total reflection spectroscopy. **Appl. Spectrosc.** v. 57, n. 12, p. 1599-1604, 2003.

ISSENHUTH, F.; SCHNEIDER, I. The New Generation of Panzym Mash. **Fruit Processing** v. 18, n. 5, p. 254–255, 2008.

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry, Physical Chemistry Division. Commission on colloid and surface chemistry including catalysis. **Reporting Physiosorption Data for Gas/Solid Systems with Special Reference to the Determination of Surface Area and Porosity Pure & Applied Chemistry**, v. 57, n. 4, p. 603- 619, 1985.

KAISER, E. Q.; DE BORBA, B. M.; ROHRER, J. S. **American Laboratory**, v. 35, n. 23, p. 16, 2003.

KATEMAN, G.; BUYDENS, L. **Quality Control in Analytical Chemistry – A Series of Monographs on Analytical Chemistry and Its Applications**, 2ª edição. New York: Wiley, 1993.

KAWANO, S. Quality inspection of agricultural products by nondestructive techniques in Japan. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v. 28, n. 3, p. 212–216, 1994.

KEENER, K. M., STROSHINE, R. L.; NYENHUIS, J. A. Proton magnetic resonance measurements of self diffusion coefficient of water in sucrose solutions, citric acid solutions, fruit juices, and apple juice. **Transactions of the ASAE**, n. 40, p. 1633 – 1641, 1997.

KENNEDY, M.; LIST, D.; LU, Y.; FOO, L. Y.; NEWMAN, R. H.; SIMS, I. M.; BAIN, P. J. S.; HAMILTON, B.; FENTON, G. Apple pomace and products derived from apple pomace:

uses, composition and analysis. In: LINSKENS, H. F.; JACKSON, J. F. (Ed.). **Modern methods of plant analyses. Analysis of plant waste materials**. Berlin: Springer Verlag, 1999, p. 75-119.

KLEYNEN, O.; LEEMANS, V.; DESTAIN, M. F. Selection of the most efficient wavelength bands for 'onagold' apple sorting. **Postharvest Biology and Technology**, v. 30, n. 3, p. 221-232, 2003.

KOSIR, I. J.; KIDRIC, J. Use of modern nuclear magnetic resonance spectroscopy in wine analysis: Determination of minor compounds. **Analytical Chemistry Act.**, v. 458, n. 1, p. 77-84, 2002.

LABUZA, T. P. Sorption phenomena in foods. **Food Technology**, v. 22, n. 3, p. 263-272, 1968.

LAMMERTYN, J.; NICOLAI, B. M.; DE SMEDT, V.; DE BAERDEMAEKER, J. Nondestructive measurement of acidity, soluble solids and firmness of Jonagold apples using NIR-spectroscopy. **Transactions of the ASAE**, v. 41, n. 4, p. 1089-1094, 1998.

LAMMERTYN, J.; PEIRS, A.; DE BAERDEMAEKER, J.; NICOLAI, B. Light penetration properties of NIR radiation in fruit with respect to non-destructive quality assessment. **Postharvest Biology and Technology**, v. 18, n. 2, p. 121-132, 2000.

LAVINE, B. K. Chemometrics. **Analytical Chemistry**, v. 72, n. 12, p. 91R-97R, 2000.

LAVINE, B.; WORKMAN, J. Chemometrics. **Analytical Chemistry**, v. 78, n. 12, p. 4137-4145, 2006.

LEE, H. S.; WROLSTAD, R. E. Apple composition: Sugar, nonvolatile acid and phenolic profiles. **Journal of Associated Off Analytical Chemistry**, v. 71, n. 4, p. 789-794, 1988.

LEHNINGER, A. L. **Bioquímica**. 2.ed. São Paulo:Edgard Blucher, 1976. 257 p.

LEONTOWICZ, M.; GORINSTEIN, S.; BARTNIKOWSKA, E.; LEONTOWICZ, H.; KULASEK, G.; TRAKHTENBERG, S. Sugar beet pulp and apple pomace dietary fibers improve lipide metabolism in rats fed cholesterol. **Food Chemistry**, v. 72, n.1, p. 73-78, jan. 2001.

LEYVA-RAMOS, R.; FUENTES-RUBIO, L.; GUERRERO-CORONADO, R. M.; MENDOZA-BARRON, J. Adsorption of trivalent chromium from aqueous solutions onto activated carbon. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 62, n.11, p. 64-67, 1995.

LU, R. F. Multispectral imaging for predicting firmness and soluble solids content of apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 31 n. 2, p. 147-157, 2004.

LU, Y.; FOO, L.Y. Identification and quantification of major polyphenols in apple pomace. **Food Chemistry**, v. 59, n.2, p. 187-194, 1997.

LU, Y.; FOO, L.Y. Constitution of some chemical components of apple seed. **Food Chemistry**, v.61, n. 1, p. 29-33, 1998.

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

LUZ, D.A.; RODRIGUES, A. K. O.; SILVA, F. R. C.; TORRES, A. E. B.; CAVALCANTE JR, C. L.; BRITO, E. S.; AZEVEDO, D. C. S. Adsorptive separation of fructose and glucose from an agroindustrial waste of cashew industry. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 7, p. 2455–2465, 2008.

LYUBCHIK, S.I.; LYUBCHIK, A. I.; GLUSHKO, O. L.; TIKHONOVA, L. P.; VITAL, J.; FONSECA, S. B. Kinetics and thermodynamics of the Cr (III) adsorption on the activated carbon from co-mingled wastes. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.242, n.1-3, p. 151-158, 2004.

MALKAVAARA, P. Chemometrics: An important tool for the modern chemist, an example from wood-processing chemistry. **Journal of Chemical Information and Computer Science**, v. 40, n. 2, p. 438-441, 2000.

MARIEY, L. et al. Discrimination, classification, identification of microorganisms using FTIR spectroscopy and chemometrics. **Vibrational Spectroscopy**, v. 26, n. 2, p. 151-159, 2001.

MAULE, R. F.; MAZZA, J. A.; MARTHA JR, G. B. Produtividade agrícola de cultivares de cana-de-açúcar em diferentes solos e épocas de colheita. **Scientia Agrícola**, Piracicaba v.58, n.2, abr/jun. 2001.

MAYES, P. A. Intermediary metabolism of fructose. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.58, n. 5, p. 754-765, 1993.

MEADE, G. P., CHEN, J. C. P. **Cane Sugar Handbook**.11 ed. New York: John Wiley & Sons, 947, 1977.

MEDEIROS, L. L. **Avaliação do desempenho de carvões ativados de bagaço de cana-de-açúcar, endocarpos de coco da Bahia e de coco-babaçu na remoção de cloro residual**. 2001, 51f. Dissertação (Mestrado em Instrumentação e automação em análise química/quimiometria) - Universidade Federal da Paraíba, 2001.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. ed. 3, New York: CRC Press, 1999, 387 p.

MILCH, R.A.; KOPECKO, P.G.; SMITH, C.K.; SYBERT, E.M. Preparation of high fructose syrups from citrus residues, **US Patent** , n. **547226**, 1985.

MILLER, J. N.; MILLER, J. C. **Statistic and Chemometrics for Analytical Chemistry**. New York: Prentice Hall, 2000. Cap. 8, p. 214-238.

MIOTTO, D. M. M.; MACHADO, N. R. C. F. Purificação do subproduto do processo de extração de esteviosídeo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.24, n. 1, p.146-150, jan./mar. 2004.

MOITRIER, S.; RINKE, P. An ¹H-NMR-Technique For High Throughput Screening In Quality and Authenticity Control Of Fruit Juice And Fruit Juice Raw Materials – SGF-Profilig. **Fruit Processing**, Alemanha, n. 1, p. 10-18, 2007.

MOSKOWITZ, H. R. Ratio scales of sugar sweetness. **Percept Psychophys**, v. 7, p. 315 - 320, 1970.

MOSKOWITZ, H. R. **Sensory Evaluation by Magnitude Estimation**. Food Technology, v. 28, n. 11, p. 16 – 21, 1974.

MUJUMDAR, A. S.; MENON, A. S. **Drying of solids; Principles, Classification and Selection of Dryers**. Handbook of Industrial Drying. Ed. A. S. MUJUMDAR, v. 1, p. 1-40, 1995.

NASCIMENTO, E. S. P. **Ésteres em aguardente de cana: seu perfil**. 2007. 132 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

NETO, A. I. S. **Ultra-Som Para a Determinação Indireta de Açúcares Redutores Empregando Análise Por Injeção Seqüencial**. 2006. 64f. Dissertação (Mestrado em ciências Naturais) – Universidade Federal da Bahia.

NERY, M. S. **Desempenhos operacional e econômico de uma colhedora em cana crua**. 2000, 108f. Dissertação (Mestrado em Máquinas Agrícolas). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ, Piracicaba, São Paulo, 2000.

NEW energy profiles for sports drinks. Fruit Processing, v. 17, n. 4, p. 218-222, jul/agosto, 2007.

NOGUEIRA, A.; SANTOS, L. D.; PAGANINI, C.; WOSIACKI, G. Avaliação da fermentação alcoólica do extrato do bagaço de maçã. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 187 – 194, abr./jun., 2005.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO - FAO. Disponível em:< <http://www.fao.org>>. Acesso em: 27 jun. 2007.

PAGANINI, C., NOGUEIRA, A., SILVA, N., WOSIACKI, G. Aproveitamento de Bagaço de Maçã para a Produção de Alcool e obtenção de Fibras Alimentares. **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, Lavras, v.29, n.6, p. 1231 – 1238, Nov./dez., 2005.

PEIRS, A.; LAMMERTYN, J.; OOMS, K.; NICOLAI, B. M. Prediction of the optimal picking date of different apple cultivars by means of VIS/NIR-spectroscopy. **Postharvest Biol. Technol.**, v. 21, p. 189-199, 2001.

PEIRS, N.; SCHEERLINCK, K.; TOUCHANT, B.; NICOLAI, B. Biosystems engineering comparison of Fourier transform and dispersive near-infrared red spectroscopy. **Apple Quality Meas.** v. 81, n. 3, p. 305–311, 2002.

POWERS, J.J., CENCIARELLI, S., SHINHOLSER, K. El uso de programas estadísticos generales en la evaluación de los resultados sensoriales. **Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos**, v. 24, n. 4, p.469-84, 1984.

PRICE, K. R.; PROSSER, T.; RICHETIN, A. M. F.; RHODES, M. J. C. A comparison of the flavonol content and composition in dessert, cooking and cider-making apples; distribution within the fruit and effect of juicing. **Food Chemistry**, v. 66, n. 27, p. 489-494, 1999.

PRODUÇÃO AGRÍCOLA. Ministério das Relações Exteriores, 2000. Disponível em:<<http://www.mre.gov.br/cdbrasil/itamaraty/web/port/economia/agric/producao/cana/index.htm>>. Acesso em: 26 jun. 2007.

QUEJI, M. D. **Determinação de açúcares simples, ácido málico e compostos fenólicos totais em bagaço de maçã por espectroscopia no infravermelho e método de calibração multivariada**. 2008. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2008.

RAUPP, D. S.; CARRIJO, K. C. R.; COSTA, L. L. F.; MENDES, S. D. C.; BANZATTO, D. A. Propriedades funcionais-digestivas e nutricionais de polpa-refinada de maçã. **Scientia Agrícola**, v. 57, n. 3, p. 395-402, 2000.

RECHE, R. V. **Aspectos da tipificação da aguardente**. 2006. 154 f. dissertação (Mestrado em química Analítica – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

REIS, R. C. **Iogurte “light” sabor morango: equivalência de doçura, caracterização sensorial e impacto da embalagem na intensão de compra do consumidor**. 2007, 145f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2007.

RIBEIRO, R. R. **Caracterização cinética da invertase imobilizada em Dowex-1X8**. 1997, 50f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

RIZVI, S. S. H.; DANIELS, J. A.; BENADO, A. L.; ZOLLWEG, J.A. Supercritical fluid extraction: Operating Principles and Food Applications. **Food Technology**, v. 17, n. 1, p. 57-64, 1986.

RODRIGUES, M. V. N.; RODRIGUES, R. A. F.; SERRA, G. E.; ANDRIETTA S. R.; FRANCO T. T. Produção de xarope de açúcar invertido obtido por hidrólise heterogênea, através de planejamento experimental. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.20, n.1, p. 103-109, abr. 2000.

RODRÍGUEZ-REINOSO, F. **Cárbon activado: estructura, preparación y aplicaciones**. In: Catalizadores y adsorbentes iberoamericanos para la remoción de metales pesados de efluentes industriales. Madri. Ed. CYTED. 2000.

RODRÍGUEZ-REINOSO, F.; MOLINA-SABIO M. Textural and chemical characterization of microporous carbons. **Advances in Colloid and Interface Science**, n. 76-77, p. 271-294. 1998.

ROMANÍ, J.; DE LA BARRERA, S.; ZUÑIGA, M. E.; RUIZ, A. Producción de edulcorante líquido con alto contenido en fructosa a partir de descartes de fruta, p. 83–85, In: Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 1991, Santiago. **Proceedings...** Santiago, 1991.

R'OTH, E.; BERNA, A.; BEULLENS, K.; YARRAMRAJU, S.; LAMMERTYNA, J.; SCHENK, A.; NICOLA'I, B. Postharvest quality of integrated and organically produced apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 45, n. 1, p. 11–19, 2007.

ROY, G. M. **Activated carbon applications in the food and pharmaceutical industries**. Technomic Publishing Company, Inc. Basel, Switzerland. 1995. 193 p.

RUTHVEN, D. M. **Principles of adsorption and adsorption process**. Wiley, New York. John Wiley & Sons. 1984. 427 p.

SÁENZ, C.; ESTÉVEZ, A. M.; SEPÚLVEDA, E.; MECKLENBURG, P. Cactus pear fruit: A new source for a natural sweetener. **Plant Foods for Human Nutrition**, Chile, v.52, n. 2, p. 141-149, abr. 1998.

SANDHU, D. K.; JOSHI, V. K. Solid state fermentation of apple pomace for concomitant production of ethanol and animal feed. **Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 56, n. 2, p. 86–90, 1997.

SANONER, P.; GUYOT, S.; MARNET, N.; MOLLE, D.; DRILLEAU, J. F. Polyphenol profiles of French cider apple varieties. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v. 47, n. 12, p. 4847-4853, 1999.

SARZANINI, C. Preconcentration and separation of haloacetic acids by ion chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 850, n. 1-2, p. 213, 1999.

SARZANINI, C. Recent developments in ion chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 956, n. 1-2, p. 3, 2002.

SATO, M. F.; RIGONI, D. C.; HEY, R. A.; ZARDO, D. M.; VIEIRA, R. G.; FALCÃO, L. D.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Bagaço de maçã de 11 novas cultivares: uma abordagem identificando fontes de compostos funcionais. **Acta Scientiarum Agronomy**. (aceito para publicação) 2010.

SCHIEBER, A.; KELLER, P.; ENDRESS, H. U.; RENTSCHLER, C.; CARLE, R. Recovery and characterisation of phenolic compounds from by-products of food processing, p. 502–504, Norwich, 2001 In: EUROFOODCHEM XI. **Proceedings...**Norwich, UK, 2001.

SCHIEBER, A.; HILT, P.; BERARDINI, N.; CARLE, R. Apple pomace and mango peels as a source of pectin and phenolic compounds, p. 145–156, Norwich, 2004. . In: Hrsg, Total Food. **Proceeding...** K. Waldron, C. Faulds, A. Smith (Eds.), Norwich, UK, 2004.

SCHWARTZ, M.; ESTÉVEZ, A. M.; TORO, R. Sucre the raisin: une option technologique face aux excédents the production, v.2, p. 631–636, 1986. In: Congress Internationale de la Vigne et du Vin, 19, local,ano. **Proceedings...** XIX Congress, 1986.

SCORDINO, M.; Di MAURO, A.; PASSERINI, A.; MACCARONE, E. Highly purified sugar concentrate from a residue of citrus pigments recovery process. **Elsevier**, Italia, v. 40, n. 4, p. 713-721, 2007.

SHERWOOD, T. K. The drying of solids II. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 21, n. 10, p. 976-980, Out, 1929.

SILVA R. N.; MONTEIRO, V. N.; ALCANFOR, J. D. X.; ASSIS, E. M.; ASQUIERI, E. R. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 337-341, 2003.

SINGH, K.; MOHAN, S. Adsorption behavior of selective monosaccharides onto an alumina interface. **Journal of Colloid and Interface Science**, n. 270, n. 1, p. 21–28, 2004.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolic with phosphomolibdic acid reagent. **American Journal of Enology and Viticulture**. n. 16, p.144-158, 1965.

SILVA, R. N.; MONTEIRO, V. N.; ALCANFOR, J. D. X.; ASSIS, E. M.; ASQUIERI, E. R. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 337-341, 2003.

SIVAKESAVA, S.; IRUDAYARAJ, J.; KORACH, R. L. Detection of adulteration in apple juice using mid infrared spectroscopy. **Applied Engineering in Agriculture**, v. 17, n. 6, p. 815-820, 2001.

SKOGLEY, E. O.; DOBERMANN, A. Synthetic ion-exchange resins: Soil and environmental studies. **Journal of Enviromental Quality**. v. 25, n. 11, p. 13-24, 1996.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. São Paulo:Bookman Editora , 2002. 836 p.

SMITH, G. A. **Sugar beet: Principles of Cultivar Development**. MacMillan Publishing Company, 1987, p.577-625.

SOMOGHY, M. Notes on sugar determination. **Journal of Biological Chemistry**, v. 195, n.1, p. 19-23, 1952.

SMOCK, R. M.; NEUBERT, A. M. **Apples and apple products**. Interscience Punlishers, Inc., New York 1950.

Sugar Beet Research and Education Board of Minnesota and North Dakota. Disponível em: < <http://www.sbreb.org>>. Acesso em: 23 jun. 2007.

STROSHINE, R. L.; CHO, S. I.; WAI, W.K.; KRUTZ, G.W. Magnetic resonance sensing of fruit firmness and ripeness. **Proceedings of the ASAE meeting**, n. 91, p. 6565, 1991, St. Joseph, Miami.

STRUMILLO, C.; KUDRA, T. **Drying: principles, applications and design**. New York: Gordon and Breach Publishers, 1986.

THIJSSSEN, H. A. C. Concentration processes for liquid foods containing volatile flavours and aromas. **Food Technology**. v. 21, n. 5, p. 211-229. 1970.

TOZETTO, A.; DEMIATE, I. M.; NAGATA, N. Análise exploratória de adoçantes de mesa via espectroscopia no infravermelho (FTIR) e análise por componentes principais (ACP). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n.4, 2007.

TSURUMI, R.; SHIRAISHI, S.; ANDO, Y.; YANAGIDA, M.; TAKEDA, K. Production of flavor compounds from apple pomace. **Nippon Shokuhin Kogaku Kaishi**, v. 48, n. 8, p. 564-569, 2001.

TUNALEY, A.; THOMSON, D. M. H.; McEWAN, J. A. Determination of equi-sweet concentrations of nine sweeteners using a relative rating technique. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 22, p. 627 – 351, 1987.

UENG, P. P.; McCracken, L. D.; GONG, C. S.; TSAO T. (In Antonio Vicente Marrocos de Andrade). Fructose production from sucrose and high fructose syrup: a mycelial fungal system. **Biotechnology Letters**, v.4, n.6, p. 353-358, 1982.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov>>. Acesso em: 23 jun. 2008.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**, 3 ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 1992. 1919 p.

VEIGA FILHO, A. A. **Mecanização da colheita de cana-de-açúcar no estado de São Paulo: uma fronteira de modernização tecnológica da lavoura**. 1998, 115 f. Dissertação (Mestrado em Política científica e tecnológica.). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

VENTE, J.A.; BOSCH, H.; HAAN, A.B.; BUSSMANN, P.J.T. Evaluation of sugar sorption, isotherm measurement by frontal analysis under industrial processing conditions. **Journal of Chromatography**. v. 1066, n. 1-2, p. 71-79, 2005.

VENTURA, M.; DE JAGER, A.; DE PUTTER, H.; ROELOFS, F. Non-destructive determination of soluble solids in apple fruit by near infrared spectroscopy (NIRS). **Postharvest Biology and Technology**. v. 14, p. 21-27, 1998.

VIEIRA, M. G. A. Análise da secagem de polpa de celulose para a obtenção de papel reciclado tipo cartão. 2006, 211f. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Estadual de Campinas, 2006.

WAACK, R. S.; NEVES M. F. Competitividade do sistema agroindustrial de cana-de-açúcar. **Competitividade no Agrobusiness Brasileiro**, São Paulo, jul., 1998.

WANG, Z.; SUN, J.; LIAO, X.; CHEN, F.; ZHAO, G. HU, X. Mathematical modeling on hot air drying of thin layer apple pomace. **Food Research International**, v. 40, n. 1, p. 39-46, 2007.

WICKHOLM, K.; LARSSON, P.T.; IVERSEN, T. Properties and treatments of pulps from recycled paper **Carbohydrate Reserch**. n. 312, p. 123, 1998.

WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A.; SILVA, N. C. C.; DENARDI, F. Quality profile of samples of 139 apples cultivars harvested in Brazil from 1982 to 2006. **Acta Alimentaria**, v. 37, n. 1, p. 9-22, 2008.

XING, J.; LANDAHL, S.; LAMMERTYN, J.; VRINDTS, E.; DE BAERDEMAEKER, J. Effects of bruise type on discrimination of bruised and nonbruised 'Golden Delicious' apples by VIS/NIR. **Postharvest Biology and Technology**. v. 30, n. 3, p. 249-258, 2003.

ANEXO

ANEXO A – PROTOCOLO EMITIDO PELO COMITÊ DE ÉTICA DA
UNIVERSIDADE

PARECER Nº 30/2008
Protocolo: 06261/08

Em reunião ordinária, realizada nesta data, a Comissão de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa intitulado "**Perfil sensorial de adoçante de maçã cultivar Gala**" de responsabilidade do pesquisador Gilvan Wosiacki.

Ponta Grossa, 04 de agosto de 2008.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP


Profª. MSc. Marlene Harger Zimmermann
Coordenadora